RÉSULTATS

DES

CAMPAGNES SCIENTIFIQUES

DU

PRINCE DE MONACO

Ce Fascicule a été publié et le dépôt fait au Gouvernement à Monaco

le 8 septembre 1938

LIBRARY
FISH & WILDLIFE SERVICE
PACIFIC OCEANIC FISHERY
INVESTIGATIONS

RÉSULTATS

DES

CAMPAGNES SCIENTIFIQUES

ACCOMPLIES SUR SON YACHT

PAR

ALBERT Ier

PRINCE SOUVERAIN DE MONACO

PUBLIÉS SOUS SA DIRECTION

AVEC LE CONCOURS DE

M. JULES RICHARD

Docteur ès-sciences, chargé des Travaux zoologiques à bord

FASCICULE XCIX

Recherches bactériologiques poursuivies à bord de la PRINCESSE ALICE

Par PAUL PORTIER

AVEC UNE PLANCHE

IMPRIMERIE DE MONACO

1938

526

Q115
C1
No. 99-102
1327

RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES

POURSUIVIES

A BORD DE LA *PRINCESSE ALICE*

RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES

POURSUIVIES

A BORD DE LA *PRINCESSE ALICE*

PAR

PAUL PORTIER

INTRODUCTION

IMPORTANCE DE LA BIOLOGIE MARINE. — ROLE DES BACTÉRIES DANS LE CIRCULUS DE LA MATIÈRE ORGANIQUE A LA SURFACE DE LA PLANÈTE.

Le mot de « bactériologie » éveille dans l'esprit de l'immense majorité des gens instruits l'idée de maladie.

La bactérie, le « microbe », est pour eux un agent pathogène.

C'est, en effet, son sens primitif, car l'illustre fondateur de la bactériologie a été conduit à cette étude par ses recherches sur les troubles des fermentations, puis sur les maladies des animaux.

Comme le disait Duclaux, « Pasteur a regardé la microbiologie par les fenêtres de la médecine ».

L'évolution de la biologie a conduit à une conception beaucoup plus générale de la microbiologie.

On comprend bien actuellement que le microbe constitue un chaînon indispensable dans les mutations des matières organiques à la surface de la planète.

C'est là son rôle général, fondamental, et l'océanographie, comme nous allons le voir, permet mieux qu'aucune autre branche de la science, d'en fournir une démonstration typique.

Quant au rôle pathogène des bactéries, bien qu'il ne soit qu'une exception dans le monde de ces êtres, il reste évidemment important pour nous et il n'est pas besoin de dire que l'océanographe doit envisager aussi cette face de la question.

Édification de la matière vivante dans la mer.
Rôle des sels nutritifs et de l'assimilation chlorophyllienne.

Les analyses d'eau de mer ont été faites, cela va de soi, par des chimistes.

Des dosages nombreux et soignés leur avaient appris que l'eau des grands océans, des mers ouvertes contenait en moyenne 35 grammes de sels par litre.

Ceux-ci se répartissaient de la manière suivante :

Pour 100 grammes de sels, on avait [1].

Cl	55,29	Na	30,59
SO^4	7,69	K	1,11
CO^3	0,21	Ca	1,20
Br	0,19	Mg	3,72

Ces résultats pouvaient sembler satisfaisants à un chimiste ; mais un biologiste devait penser que certaines substances de première importance avaient été omises par l'analyse.

Il savait par exemple que la principale source de l'iode se trouve dans certaines algues qui, pour l'accumuler dans leurs tissus, doivent l'extraire de l'eau de mer qui les baigne.

Ils savaient qu'on peut obtenir le développement complet d'une plante depuis la graine en faisant plonger ses racines dans une solution composée uniquement de sels inorganiques (chlorures et sulfates de calcium, de potassium, de magnésium et de fer, mais aussi de *nitrates* et de *phosphates*) [2].

Ces derniers sels sont absolument indispensables, ils ont un rôle de première importance dans la nutrition de la plante. Tous les agronomes savent que la fertilité des sols est fonction de la concentration en nitrates et phosphates des terres arables ; si ces « sels nutritifs » se révèlent en quantité insuffisante à l'analyse, ils les ajoutent à leur terre en tenant compte des exigences de la plante qu'ils ont formé le projet de cultiver.

Or la mer possède sa prairie qui est constituée par les algues côtières, par certaines graminées (Zostères, Posidonies), mais aussi et surtout par les organismes chargés de chlorophylle [3] du plancton (Algues unicellulaires, Diatomées, Péridiniens, etc.).

[1] Moyenne de 77 analyses d'eau de mer prélevée à des Stations variées par l'expédition du *Challenger*.

[2] Solution de Knopp.

[3] Ou d'autres pigments capables de jouer un rôle analogue dans l'assimilation chorophyllienne : phycocyanine, phycoxanthine, phycoérythrine, etc.

Étant donnée l'unité des processus fondamentaux dans toute la série des êtres vivants, il serait incompréhensible que la prairie marine se comportât autrement que la prairie terrestre et que les « sels nutritifs » y fussent absents.

Et, en effet, si les premières analyses les ont méconnus, c'est qu'ils n'existent qu'à une concentration très faible, mais on les a trouvés dès qu'on les a cherchés avec des méthodes suffisamment sensibles.

Un sol de fertilité moyenne renferme de un à deux grammes d'acide phosphorique par kilogramme de terre, soit un à deux kilogrammes par tonne de terre.

En hiver, au moment où la concentration de ces sels passe par un maximum, l'eau de mer renferme de 30 à 40 milligrammes d'acide phosphorique par mètre cube.

L'eau de l'océan, dans les conditions les plus favorables, renferme donc 30000 fois moins d'acide phosphorique que la terre arable.

L'expérience a montré qu'elle renfermait également des nitrates, mais aussi à un état très dilué (environ 50 milligrammes par mètre cube) [1].

Voyons maintenant comment ces nitrates et ces phosphates sont utilisés.

Dans l'océan, comme dans la terre arable, ces sels entrent dans le *circulus* de la matière vivante grâce au jeu de l'assimilation chlorophyllienne. On sait que la cellule qui possède ce pigment peut capter certaines radiations solaires et utiliser l'énergie ainsi retenue pour décomposer le gaz carbonique et édifier d'abord les composés ternaires (glucides), puis des corps plus complexes, phosphatides, protides, dans lesquels entrent le phosphore et l'azote des nitrates.

Quand au premier printemps (mars, avril) le soleil est ardent, on constate un développement rapide et considérable du plancton chlorophyllien ; l'assimilation chlorophyllienne fonctionne alors à plein rendement ; les algues unicellulaires, les Péridiniens se multiplient rapidement et constituent bientôt d'énormes masses de matière vivante.

Atkins estime que la production annuelle de phytoplancton dans la Manche serait de 1400 tonnes par kilomètre carré.

Gran, par une méthode différente, trouve que dans le fjord d'Oslo, il se forme dans la couche superficielle de dix mètres de la mer, environ deux tonnes et demie de glucose par kilomètre carré et vingt-quatre heures.

Si on multiplie ces chiffres par l'énorme coefficient qui correspond à la surface totale des mers, on arrive à une quantité de matière vivante qui confond l'esprit. On peut dire que l'assimilation chlorophyllienne est le phénomène *actuel* le plus considérable qui se passe à la surface de la planète.

Voici donc une énorme quantité de matière végétale qui est élaborée, aux dépens des matières salines. Comme sur la terre, elle va être utilisée par les

[1] Il faut remarquer que dans la mer ces sels nutritifs sont complètement dissous et même *ionisés* tandis que dans le sol, une grande partie est adsorbée par les éléments solides environnants.

herbivores qui ici sont constitués surtout par les petits animaux et les nombreuses larves du plancton. Enfin les carnivores à leur tour se nourriront des herbivores. L'enchaînement est partout le même.

Mais dans le milieu marin, le facteur insolation a une importance particulière ; c'est lui qui conditionne l'abondance du plancton végétal, d'où résulte à son tour le développement de tous les autres animaux.

C'est ainsi que le nombre d'heures d'insolation pendant le premier printemps permet de prédire à coup sûr si la pêche de certains poissons comme le maquereau sera abondante ou déficiente au mois de mai.

Mais revenons à nos sels nutritifs.

Comme conséquence de cette utilisation intense conditionnée par l'assimilation chlorophyllienne, on les voit diminuer et souvent, vers la fin de mai, lorsqu'il y a eu un grand nombre de journées ensoleillées, la concentration des phosphates et plus encore celle des nitrates tombe à une valeur très basse, voisine même de zéro.

On voit alors se produire à la surface de la mer le même phénomène que sur les terres trop appauvries en nitrates ou phosphates, la végétation se raréfie, et peut même disparaître presque complètement.

Un automobiliste dirait qu'il y a arrêt de développement du plancton végétal par suite d'une panne de nitrates.

Cet état de choses peut durer une partie de l'été ; mais quand arrive le mois de septembre, on constate que la concentration des sels nutritifs augmente de nouveau et au mois d'octobre, elle est ordinairement revenue à son état normal.

Quelle est l'origine de ces sels nutritifs qui viennent réapprovisionner la surface de la mer, rétablissant la fécondité interrompue ou tout au moins très ralentie pendant l'été ?

Il y a quelques années encore, on faisait jouer à l'eau des fleuves un rôle très important dans ce phénomène.

Et, en effet, l'eau des rivières est sensiblement plus riche que celle de la mer en nitrates et phosphates. Mais, étant donnée l'immensité des mers, comparée au débit des fleuves, un calcul élémentaire montre que ce facteur ne peut jouer que dans les parages de leurs embouchures. De toute évidence, il doit y avoir une autre source de sels nutritifs infiniment plus importante.

Et c'est précisément ici qu'interviennent les bactéries.

Tous les êtres qui peuplent la mer, aussi bien les petits êtres animaux ou végétaux du plancton que les grands Mollusques, Crustacés, Poissons et jusqu'aux énormes Cétacés, finissent par mourir. On peut dire qu'il y a une véritable pluie de cadavres qui descend constamment de la surface sur le fond de la mer.

Il y a de plus les déchets de nutrition qui sont expulsés par tous ces animaux dans le milieu qui les entoure.

De nombreuses espèces de bactéries adaptées à des fonctions variées remanient tous ces déchets, tous ces cadavres.

Les matières protéiques sont décomposées, l'azote qui était engagé dans des molécules compliquées apparaît sous forme d'ammoniaque que d'autres bactéries transformeront en acide nitreux ou acide nitrique.

Les graisses phosphorées, les nucléo-protéides sont aussi décomposés et l'acide phosphorique reparaît lui aussi à l'état libre.

L'urée, l'acide urique, tous les produits de déchets sont aussi attaqués par des bactéries différenciées pour ce travail.

Il se produit en somme un immense travail qui a pour résultat final la fragmentation des molécules complexes en petites molécules salines qui pourront rentrer dans le circulus vital grâce au jeu de l'assimilation chlorophyllienne.

Lorsque les sels nutritifs n'existent plus qu'à l'état de traces dans la couche superficielle de la mer, il suffit de puiser de l'eau à cinquante ou soixante mètres pour trouver une concentration sensiblement plus forte en nitrates, phosphates [1].

Nous savons d'autre part que les eaux des grandes profondeurs et la vase sont très riches en sels nutritifs.

D'après des recherches faites récemment dans l'Atlantique, on estime que dans les abysses des grands océans il existe une quantité de sels nutritifs dont l'ordre de grandeur serait de 250 milliards de tonnes de nitrate et de 75 millions de tonnes de phosphate.

Il existe donc dans les grandes profondeurs une immense réserve de ces sels nutritifs indispensables à l'édification de la matière vivante.

Comment ces eaux qui pourraient féconder la prairie marine sont-elles ramenées dans la zone superficielle de la mer ? C'est la question que nous devons traiter brièvement maintenant.

Il y a peu de temps, les océanographes pensaient que les eaux des grandes profondeurs étaient en repos complet.

Les océanographes allemands en particulier établissaient une distinction très nette entre la *troposphère* marine, couche mince de surface qui subit l'influence des mouvements de l'atmosphère et présente donc des courants marqués et quelquefois intenses et la *stratosphère* marine, constituée par les couches sous-jacentes, donc par la plus grande partie de la masse de l'océan qui n'aurait présenté que des mouvements très lents ou qui aurait même été complètement en repos.

Les campagnes du *Thor*, du *Dana*, et surtout du *Meteor* ainsi que les synthèses si vivantes de Camille Vallaux ont amené une transformation profonde dans notre conception de la circulation des eaux profondes.

Ce n'est évidemment pas le moment d'exposer cette question en détail ; indiquons seulement quelques-uns des mécanismes les plus typiques et les plus efficaces qui font surgir à la surface les eaux de la profondeur.

[1] Et aussi en silicates qui jouent un rôle important dans l'édification des tests ou des squelettes des diatomées, certains protozoaires, etc.

1°. Dans la mer qui entoure nos côtes, et aussi plus au nord, l'eau de la surface en contact avec l'atmosphère se refroidit en hiver. Il arrive un moment où sa densité surpasse celle de l'eau sous-jacente.

Cette eau froide gagne alors la profondeur et chasse une eau chargée de sels nutritifs qui la remplace à la surface.

Ces *échanges par convection* jouent un rôle très important dans certaines mers peu profondes comme la Mer du Nord.

Dans la zone équatoriale par contre, le phénomène précédent n'existe pas. Il est remplacé par un autre : l'évaporation ; mais les eaux de surface s'échauffant sous l'influence de la radiation solaire, le résultat final est qu'il existe là une épaisse couche d'eau superficielle à l'*intérieur de laquelle se font les échanges*.

Les couches riches en sels nutritifs restent éloignées de trois ou quatre cents mètres de la surface.

C'est la zone des mers bleues[1] généralement pauvres en plancton.

2°. La zone de rencontre de deux courants est ordinairement très riche en sels nutritifs.

C'est ce qu'on observe par exemple dans la mer située entre l'Islande et le Groenland.

C'est là, en effet, que le courant froid de la côte du Groenland rencontre le courant chaud du Gulf-Stream.

Il est bien curieux de constater que chacun de ces deux courants est pauvre en sels nutritifs tandis que leur mélange est très riche.

Cela tient à ce que la rencontre des deux courants donne lieu à un tourbillon, à une sorte de cyclone qui produit une aspiration des eaux de la profondeur qu'il amène à la surface.

3°. L'étude des mouvements des eaux de profondeur a révélé l'existence d'un courant formé par les eaux froides et denses qui, partant du pôle arctique, gagne les basses latitudes, en s'écoulant sous les couches chaudes et légères des zones tropicale et équatoriale.

Ce courant profond franchit l'équateur et gagne la zone antarctique. Il vient alors buter sur le continent antarctique et reflue à la surface en y déversant une eau très riche en sels nutritifs, beaucoup plus riche que celle de la mer arctique, car ce courant s'est « nourri » pendant son long trajet dans la profondeur.

4°. Citons enfin un dernier exemple : il existe un contraste frappant entre la côte atlantique est de l'Amérique du sud où la mer est bleue, chaude, pauvre en sels nutritifs, et la côte atlantique ouest de l'Afrique située en face d'elle qui possède des eaux vertes, donc riches en plancton et de température relativement basse.

[1] Suivant la remarque de Schütt, l'eau bleue est pure donc presque dépourvue d'êtres vivants. Le bleu est la couleur du désert maritime ; les couleurs jaune et verte indiquent au contraire une abondance du plancton végétal.

Quelle est la raison de cette différence si frappante ?

Dans l'hémisphère sud, les vents alizés soufflent du sud-est au nord-ouest. Mais des observations faites par l'expédition du *METEOR*, il résulte qu'au voisinage de la côte d'Afrique, ces vents sont déviés et prennent une direction à peu près parallèle à celle-ci.

Les molécules liquides de la surface sont entraînées par le vent et un courant prend naissance. Mais ce courant est lui-même dévié par la rotation de la terre, et dévié vers la gauche puisque nous sommes dans l'hémisphère sud.

Cette déviation augmente avec la profondeur, et on constate qu'à quelques mètres de la surface, les instruments décèlent un courant qui s'éloigne du rivage dans une direction à peu près perpendiculaire à celui-ci.

Or, et c'est là le point important pour nous, ce courant fait l'office d'une trompe aspirante qui attire à la surface l'eau des couches profondes riches en sels nutritifs.

Nous voyons qu'en résumé, les eaux profondes, enrichies en sels nutritifs par le travail des bactéries, sont ramenées dans les zones superficielles de la mer par le jeu de trois facteurs principaux qui peuvent d'ailleurs combiner leurs effets : variations de température des eaux de surface, vents, rotation de la terre.

On pourrait dire que, pour le biologiste, certains courants marins jouent le rôle de la charrue de l'agriculteur ; ce sont eux qui contribuent à entretenir la fertilité de la mer.

Rôles multiples des bactéries marines.

Nous venons de montrer le rôle capital, indispensable, des bactéries marines dans le circulus de la matière dans le milieu marin, (aussi bien d'ailleurs que sur toute la surface de notre planète).

Sans les bactéries, ce circulus serait interrompu. Les cadavres, les déchets de la nutrition s'accumuleraient et finiraient par intoxiquer les êtres vivants.

Mais il ne sera pas inutile de donner quelques précisions à ce sujet et de montrer par quelques exemples concrets la généralité du phénomène que nous étudions.

Bactéries remaniant, solubilisant la gélose, la chitine, la cellulose, le caoutchouc (latex) etc.

On sait que, dès le début de leurs recherches, les bactériologistes éprouvèrent le besoin de posséder à côté de leurs *milieux liquides* (bouillons de diverses formules) des *milieux solides*.

C'est ainsi qu'ils utilisèrent des tranches de pomme de terre, de carotte, placées dans des tubes de forme spéciale et stérilisés à l'autoclave.

Mais ils pensèrent aussi à « solidifier » les bouillons de culture en leur incorporant une certaine quantité de gélatine ou bien d'agar-agar ou gélose.

Cette dernière substance est extraite d'algues marines des mers de Chine et du Japon (*Gelidium cartilagineum, Gracilaria lichenoïdes*, *Euchema spinosum*, etc.)[1].

Sur ces milieux solides ou solidifiés, les colonies des divers microbes revêtent des formes souvent caractéristiques qui sont utilisées avec leurs autres caractères pour les identifier à une espèce donnée.

C'est ainsi qu'un grand nombre de microbes sécrétant des diastases protéolytiques peptonisent la gélatine. On constate dans ce cas une liquéfaction du milieu au niveau de la culture ; et c'est là un caractère important.

Or, jusque vers l'année 1900, parmi les milliers et probablement même les millions de cultures faites dans les laboratoires de bactériologie, on n'avait trouvé aucun microbe, et même aucune association microbienne solubilisant la gélose. C'était, dans le monde des bactériologistes, un article de foi qu'il n'en existait pas.

Lors de la campagne océanographique de 1901, comme dans celles qui ont suivi, j'avais eu soin de repiquer sur milieux solides les microbes récoltés dans l'eau de mer à diverses profondeurs.

Un grand nombre de tubes de gélatine présentaient des phénomènes de liquéfaction ; mais, à mon grand étonnement, quelques tubes de gélose présentaient le même phénomène.

Je repiquai les colonies sur d'autres tubes de gélose qui, eux aussi, se liquéfièrent.

A mon retour à Paris, je fis part de ma découverte à plusieurs bactériologistes professionnels qui accueillirent ma communication avec un scepticisme irréductible. Tous me dirent que s'il existait des microbes liquéfiant la gélose, ils auraient été rencontrés lors des innombrables ensemencements qui avaient été faits.

Je leur confiai alors mes cultures avec prière instante de les examiner. Mais les mois passèrent sans qu'il me fût possible d'obtenir la vérification demandée.

Une hérésie ne comporte pas de vérification.

Si je me suis quelque peu étendu sur cet incident, c'est pour montrer l'état d'esprit des bactériologistes à cette époque.

Ces savants ne s'intéressaient qu'aux microorganismes rencontrés dans les les tissus, dans les humeurs des êtres malades, ou à la rigueur en bonne santé ; or, l'expérience leur montrait que des bactéries liquéfiant la gélose ne se rencontraient pas dans ces conditions.

Un bactériologiste envisageant sa science sous l'angle de la biologie générale aurait au contraire affirmé *à priori* que de telles bactéries devaient exister dans le milieu marin pour la raison que les thalles des Floridées desquelles on extrait la gélose disparaissent entièrement après leur mort.

[1] C'est une sorte de pectine à laquelle on attribue la formule $C^{24} H^{38} O^{19}$.

D'ailleurs quelques recherches bien conduites leur auraient montré la présence de ces bactéries dans le milieu marin.

Vers 1902, donc très peu de temps après mes observations, H. Gran, qui travaillait à Delft dans le laboratoire du Professeur Beijerinck trouvait, sans les chercher, ces bactéries liquéfiant la gélose. Il les retrouvait ensuite en Norvège, à Bergen et à Aalesund ; mais il ne pouvait les rencontrer en dehors de la mer.

Il montrait que la décoction des Floridées convenait particulièrement pour leur culture et qu'elles étaient abondantes dans la macération du thalle de ces algues.

Il mettait, enfin, en évidence la sécrétion, par ces bactéries, d'une diastase : la *gélase,* qui possède la propriété de liquéfier et de décomposer par hydrolyse la gélose.

Lorsqu'on s'est placé dans des conditions convenables, on a trouvé dans le milieu marin des bactéries capables de solubiliser la chitine des carapaces de Crustacés, la cellulose, les latex (caoutchouc).

Les métaux eux-mêmes n'échappent pas à leur action. R. Legendre étudiant expérimentalement au laboratoire de Concarneau la question si importante de la corrosion à la mer a montré que des tôles peintes immergées depuis 8 mois présentaient des sortes de pustules rouges en surface, noires en profondeur ; lorsqu'elles sont enlevées, le métal apparaît « brillant et comme décapé ». Une sorte de glaire d'odeur nauséabonde existe à l'intérieur de ces pustules, qui contiennent aussi des concrétions blanchâtres de calcaire.

Veillon, de l'Institut Pasteur, a pu isoler de la glaire un grand nombre de bactéries parmi lesquelles beaucoup d'anaérobies.

Il semble que le rôle principal dans le phénomène étudié soit tenu par le *Vibrio desulphuricans* isolé par Beijerinck. Cette thiobactérie, anaérobie stricte, décompose les sulfates en libérant de l'oxygène et provoquant le dépôt de concrétions calcaires lorsqu'on se trouve en présence d'un sel de calcium.

$$Ca\,SO_4 + CO_2 + H_2O = H_2S + CO_3Ca + 4O.$$ [1].

* * *

Il nous est évidemment impossible dans ce court aperçu sur le rôle des bactéries dans le milieu marin d'énumérer toutes les actions, toutes les transformations qu'elles opèrent.

Rappelons seulement qu'on a montré la présence de bactéries fixatrices de l'azote qui est en dissolution dans l'eau de mer ; de bactéries nitrifiantes et dénitrifiantes, etc.

C'est à des bactéries que sont dûs les dépôts de fer, de manganèse, de calcium.

[1] Des travaux récents ont montré que c'est aussi à des actions microbiennes qu'est due l'attaque des tuyaux de fonte enfouis dans les sols de remblai du Zuyderzée et leur « graphitisation ».

Les gazomètres des usines à gaz, les réservoirs des raffineries de pétrole, sont eux-même attaqués.

Les bactéries lumineuses sont très largement répandues et jusque dans les plus grandes profondeurs [1].

Certains biologistes croient même que les organes lumineux des poissons, des céphalopodes, des cœlentérés, doivent leur luminosité à des bactéries symbiotes ; mais la question n'est pas résolue définitivement.

Remarquons que les bactéries se multiplient avec une prodigieuse rapidité aux dépens des matières organiques qu'elles attaquent et qu'elles constituent une source importante de nourriture de beaucoup de larves et d'animaux de petite taille.

Il existe des animaux *limivores*, c'est-à-dire qui absorbent la vase des fonds marins comme certains poissons (*Macrurus*), des vers marins (Arénicole) et surtout des holothuries. Il semble bien que le contenu intestinal de ces animaux réalise un milieu de culture favorable dans lequel les microorganismes se multiplient en quantité prodigieuse [2] et sont ensuite phagocytés par les parois du tube digestif.

Ces animaux *limivores* seraient donc en réalité *bactérivores*.

Bactéries chlorurophiles. — Les diverses bactéries ont des résistances très variables en face de la concentration en chlorure de sodium du milieu de culture.

Guillemard a montré que ce caractère pouvait même être utilisé pour différencier des espèces appartenant au groupe du bacille typhique.

Taylor a trouvé une bactérie voisine du *subtilis* qui végète sur un milieu ne renfermant aucune trace de chlorure de sodium.

Il est plus intéressant de connaître la concentration maxima qui arrête le développement de beaucoup d'espèces.

Elle est de	41	grammes par litre pour le		*Bacillus megaterium*
	64	—	—	*Bacterium coli*
	64	—	—	*Bacillus typhosus*
	76	—	—	*Bacillus paratyphosus* A ou B
	88	—	—	*Bacillus Friedlanderi*
	204	—	—	*Staphylococcus pyogenes*

Il existe enfin des microbes qui ne se développent que dans des milieux sursaturés en chlorure de sodium. Tel le microbe du rouge de Morue (*Bacillus holobius niger*) qui envahit les cargaisons de morue salée causant des pertes très importantes aux armateurs [3].

Pour le cultiver, il faut employer un bouillon de poisson contenant 400 grammes de chlorure de sodium par litre.

[1] Un des modes de pêche employé par le Prince de Monaco dans les grandes profondeurs consistait en grandes nasses triangulaires à l'intérieur desquelles on suspendait des morceaux de poisson comme amorce. Lorsqu'on retirait la nasse, ces amorces étaient presque toujours lumineuses.

[2] On verra ci-dessous que nos recherches nous ont toujours montré une très grande abondance de bactéries dans le contenu intestinal des holothuries des grands fonds.

[3] La salaison des denrées périssables est fondée sur le fait que les bactéries ne peuvent se développer que si la concentration en sel ne dépasse pas une certaine limite. On voit que ce principe est ici en défaut.

Le bacille du rouge de morue ne se trouve pas dans l'eau de mer ; on ne l'a rencontré que dans l'eau des salines et surtout dans le sel blanc provenant de la Méditerranée. Le meilleur moyen pour l'éliminer est d'insoler le sel ou de le pasteuriser à 68-70 degrés.

Bactéries pathogènes. — Il existe des bactéries pathogènes dans la mer. Leur rôle au point de vue de la biologie générale est très modeste en comparaison de celui des bactéries qui remanient la matière organique ; mais il va sans dire que ce rôle intéresse l'homme au plus haut point.

On sait les accidents extrêmement graves causés par l'ingestion de mollusques acéphales consommés crus et porteurs de bacilles de la fièvre typhoïde (huîtres, palourdes...).

Ce n'est point le lieu de traiter en détail cette importante question qui ressortit à l'organisation des parcs à huîtres.

Les animaux marins peuvent aussi souffrir de maladies microbiennes et il y a quelques années les huîtres du genre *Ostrea* ont été presque anéanties à la surface du globe, tandis que celles du genre *Gryphæa* restaient indemnes.

Nous arrêterons ici ces quelques pages d'introduction destinées à montrer la grande importance des recherches de microbiologie marine et les directions dans lesquelles elles doivent être poursuivies.

Nous allons maintenant procéder à l'exposé de ces recherches.

EXPOSÉ DES RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES FAITES A BORD DE LA PRINCESSE ALICE.

Les recherches bactériologiques qui font l'objet du présent mémoire ont été poursuivies à bord de la *PRINCESSE ALICE* pendant les quatre campagnes scientifiques de 1901, 1902, 1903 et 1904.

Trois problèmes distincts ont été abordés et menés de front en profitant des occasions qui s'offraient.

1°. Recherche des microorganismes du tube digestif et du milieu intérieur des animaux marins des différentes classes.

On s'attachait à examiner surtout les animaux retirés des grandes profondeurs.

2°. Recherche des microorganismes de la vase des grands fonds.

3°. Répartition, et numération approximative des microorganismes dans la masse d'eau océanique depuis la surface jusqu'aux plus grandes profondeurs.

Conditions de recherche et installations des appareils à bord de la PRINCESSE ALICE.

Les recherches bactériologiques ne donnent de résultats utilisables que si elles sont poursuivies avec une technique impeccable.

On connaît toutes les précautions minutieuses qui sont prises dans les laboratoires des instituts de bactériologie pour éliminer les causes de contamination par des microorganismes provenant du milieu ambiant.

A bord d'un bateau, les difficultés d'obtenir des opérations impeccables sont augmentées dans des proportions considérables.

Nous devons donc donner quelques détails sur notre installation et la manière dont nous réalisions nos expériences.

Une certaine quantité de milieux de culture solides et liquides étaient préparés au laboratoire de la Sorbonne ou à celui de la Faculté de Pharmacie[1] avant la campagne.

Mais des milieux composés d'eau de mer, de poisson ou de crustacés étaient aussi préparés au cours des campagnes.

D'autre part, la répartition du bouillon dans des tubes de culture devait être fréquemment réalisée au fur et à mesure des besoins.

Il était donc indispensable de posséder à bord un autoclave.

Un de ces appareils avait été installé dans un laboratoire accessoire situé sur le pont. Il était d'abord chauffé au moyen d'un fourneau Primus à deux becs. Mais, dans ces conditions, la température de 120 degrés était longue à atteindre et difficile à maintenir. Aussi, dans les campagnes suivantes, on modifia le procédé de chauffage de la manière suivante.

Un tuyau de cuivre formant plusieurs cercles concentriques était immergé dans l'eau qui garnissait le fond de l'autoclave ; il était muni de robinets pointeaux aux points où il entrait et sortait de l'autoclave.

La vapeur de la chaudière de la machine pouvait être amenée dans ce serpentin et réglée au moyen des pointeaux. La manœuvre de deux robinets permettait donc de chauffer l'autoclave à la température voulue et de maintenir cette température pendant le temps nécessaire à la stérilisation.

Il va sans dire que cet autoclave était solidement fixé au plancher du laboratoire garni d'une feuille de plomb ; mais que de difficultés pour opérer en mer ! Quand le roulis devenait trop intense, toute opération de stérilisation devenait impossible à réaliser.

Une étuve électrique, chauffée par le courant continu du bord, avait été installée dans le grand laboratoire de la *Princesse Alice* par la maison Lequeux. Après une mise au point indispensable pour un appareil qui était réalisé pour la première fois[2] en France, cette étuve nous donna toute satisfaction.

Les courants d'air qui soulèvent les poussières et déplacent les germes sont l'ennemi du bactériologiste. Sur les bateaux, en pleine mer, il est très difficile

[1] M. Radais, à cette époque professeur de microbiologie et doyen de la Faculté de Pharmacie, a bien voulu nous aider souvent de ses conseils et nous faire préparer des milieux de culture. Nous lui en exprimons encore toute notre gratitude. M. Radais est actuellement doyen honoraire.

[2] L'installation de cette étuve avait été faite en 1900.

de se préserver de cet inconvénient majeur. Après quelques essais infructueux, je pris le parti de faire toutes les opérations d'ensemencement et de transvasement dans ma cabine après avoir fermé hermétiquement hublot, prise d'air et porte à coulisse.

Inutile de faire remarquer que cet emploi de l'autoclave et ce travail en espace clos sont très pénibles lorsque le roulis s'accentue et que la température est élevée, et c'était souvent le cas dans les parages des Açores, des Canaries et des îles du Cap Vert où les recherches que nous allons exposer ont été faites.

Milieux de culture.

Comme nous l'avons déjà indiqué, avant chaque campagne, on préparait à Paris une certaine quantité de bouillon ordinaire suivant la formule classique. Ce bouillon stérile était emporté dans des ballons fermés à la lampe.

A mesure des besoins, il était réparti dans des tubes ou de petits ballons et stérilisé de nouveau à l'autoclave.

On se munissait aussi d'une quantité suffisante de tubes de gélose ou de gélatine destinés à repiquer les cultures faites sur milieu liquide.

Mais dès la seconde campagne, celle de 1902, nous fûmes amené à préparer des milieux qui nous semblaient plus adaptés aux recherches de microbiologie marine.

Voici quelques indications sur ces milieux préparés à bord de la *PRINCESSE ALICE*.

Bouillon de poisson.

Muscles de poissons hachés	1 partie
Eau de mer	5 parties

On laisse en contact environ une heure.

On porte ensuite à l'autoclave à 115 degrés pendant vingt minutes.

Après refroidissement, filtration, répartition dans tubes ou petits ballons ; nouvelle stérilisation.

Bouillon de poisson glucosé.

Même bouillon que précédemment, mais, avant la seconde stérilisation, on ajoute 2 pour 100 de glucose.

Bouillon de crustacé.

On utilisait les Crustacés qu'on avait l'occasion de se procurer.

En pleine mer, quand on rencontrait une épave, on ne manquait pas de la visiter et de recueillir les *Lepas* qui s'y développent si fréquemment.

Le bouillon confectionné au moyen de ces Cirrhipèdes constitue un excellent milieu de culture.

Lepas broyés avec leur test calcaire	510 grammes
Eau de mer	1500 grammes

Après un contact d'une demi-heure, on porte à 115 degrés ; on filtre après refroidissement, et on stérilise de nouveau à l'autoclave.

Enfin des milieux solides à la gélatine et à la gélose étaient faits avec ces bouillons à base d'eau de mer et d'animaux marins.

RECHERCHES SUR LES MICROORGANISMES DU TUBE DIGESTIF ET DU MILIEU INTÉRIEUR DES ANIMAUX MARINS.

Nous donnons ici les résultats des recherches poursuivies pendant les campagnes de 1901 et 1902.

Nous présentons ces expériences dans l'ordre de la classification zoologique.

1°. — *Téléostéens.*

Synaphobranchus pinnatus Gr., 1.

Station 1123. 15 juillet 1901. Parages de l'île de Fer (Canaries). Temp. 5°2.

Le chalut ramène de la profondeur de 1786 mètres des encrines, des scaphopodes et quelques poissons.

Parmi ceux-ci, nous choisissons un *Synaphobranchus pinnatus* Gr.

On lie le tube digestif à ses deux extrémités. On l'extrait et on le dépose sur une plaque de liège.

Ce tube digestif est ouvert en deux endroits au thermocautère.

On prélève un peu du contenu de l'estomac, puis de l'intestin, au moyen d'une anse de platine stérile.

On fait sur bouillon Radais glycériné à 5 pour 100 :

1°. Deux ensemencements du contenu stomacal.

On obtient une culture positive.

2°. Trois ensemencements d'intestin.

Une seule culture est positive.

3°. La vésicule biliaire est ponctionnée au moyen d'une pipette stérile.

On fait trois ensemencements sur bouillon glycériné.

Aucun de ces ensemencements ne donne de culture.

Il faut remarquer que le tube digestif de ce poisson était vide d'aliments.

Les cultures montrent qu'il renfermait des bactéries, mais, semble-t-il, en petit nombre ; ce sont les tubes les plus largement ensemencés qui, seuls, ont donné des cultures.

Synaphobranchus pinnatus Gr., 2.

Station 1196. 16 août 1901. Près de Maio (îles du Cap Vert). Prof. 1300 mètres.

Ouverture de l'intestin au thermocautère.

Trois tubes sont largement ensemencés.

Deux tubes bouillon Radais glycériné à 2 pour 100.

Un tube bouillon Radais ordinaire.

Les trois tubes donnent des cultures, mais deux s'éclaircissent les jours suivants.

Le tube qui reste trouble est repiqué sur gélose.

Le fait que nous venons de signaler est très fréquent. Les microorganismes qui proviennent du tube digestif des poissons abyssaux donnent des cultures qui semblent pousser à regret, et qui ne persistent pas.

Il semble que les conditions qu'on leur offre ne soient pas favorables.

Peut-être faudrait-t-il maintenir ces cultures à basse température ?

Nous n'étions pas organisés pour le faire à bord de la *PRINCESSE ALICE*.

Dicrolene intronigra Goode et Bean.

Station 1193. 15 août 1901. Près de Maio (îles du Cap Vert). Température du fond 5°8. Profondeur 1311 mètres.

Isolement et ouverture de l'intestin au thermocautère.

On ensemence largement :

1°. Trois tubes bouillon Radais glycériné à 2 pour 100.

2°. Trois tubes bouillon Radais simple.

Deux tubes de chaque série ont donné des cultures, une pellicule blanche se forme à la surface du liquide.

Les deux autres tubes restent stériles.

On voit que, ici encore, les microorganismes du tube digestif de ces poissons de grande profondeur donnent des cultures peu prospères dans les conditions où nous les cultivons.

Synaphobranchus pinnatus Gr.

Station 1193. 15 août 1901. Près de Maio.

La même station 1193 nous permet d'étudier bactériologiquement le tube digestif d'un Congridé.

Tube digestif isolé. Estomac et intestin ouverts au thermocautère.

Avec le contenu stomacal, on ensemence :

Un tube bouillon Radais glycériné à 2 pour 100.

Un tube bouillon Radais ordinaire.

Avec le contenu intestinal, on ensemence :

Un tube bouillon Radais glycériné à 2 pour 100.

Un tube bouillon Radais ordinaire.

Les quatre tubes ensemencés donnent des cultures abondantes, qui peuvent être repiquées sur gélose.

Il est remarquable que le contenu du tube digestif de ce Congridé a donné des cultures beaucoup plus abondantes et bien plus prospères que celui des autres poissons de grands fonds examinés.

Exocet (*Halocypselus evolans* L.).

Station 1133. 18 juillet 1901. Parages des îles du Cap Vert.

Des Exocets (Poissons volants) tombent sur le pont de la *Princesse Alice* le 18 juillet vers 18 heures.

La surface ventrale d'un de ces poissons est passée au thermocautère. On prélève ensuite aseptiquement une partie du contenu stomacal, puis du contenu intestinal.

On ensemence largement des tubes de bouillon Radais glycériné à 5 pour 100.

Des fragments de testicule et de cœur prélevés aseptiquement sont aussi placés dans des tubes de bouillon glycériné.

Tous les tubes ensemencés avec le contenu du tube digestif donnent des cultures abondantes.

Les tubes ensemencés avec les organes (cœur, testicule) restent stériles.

Un second Exocet examiné dans les mêmes conditions fournit des résultats identiques.

Conclusions. — Des recherches précédentes, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1°. Le contenu du tube digestif des poissons de surface est peuplé de microorganismes abondants.

2°. Le contenu du tube digestif des poissons abyssaux qui vivent à une température basse semble contenir beaucoup moins de microorganismes. On parvient à cultiver ceux-ci, mais les cultures après s'être développées, s'atténuent souvent et finissent même par disparaître. On a l'impression que ces microorganismes ne se trouvent pas dans des conditions favorables de développement.

Les organes et les humeurs (cœur, testicule, bile) prélevés soit chez les poissons de surface, ou chez ceux des grands fonds ne nous ont jamais fourni aucune culture.

2°. — *Recherches bactériologiques sur les liquides péricardiques et péritonéaux des squales.*

Charles Richet et Louis Olivier, par des recherches faites au laboratoire du Havre vers l'année 1882, avaient montré que le péritoine des poissons renferme des microorganismes souvent nombreux.

Au cours de la campagne de 1901, ayant eu l'occasion d'examiner de nombreux squales, nous avons tenté la culture des microorganismes du liquide péritonéal.

1°. Station 1207. 19-20 août 1901. Ile de Sal (îles du Cap Vert).

Squales pris au tramail. Ils sont morts depuis deux heures environ.

On prélève aseptiquement une certaine quantité de liquide péritonéal avec lequel on ensemence trois tubes.

Résultat. — Un seul des trois tubes donne une culture.

2°. Station 1207. 19-20 août 1901. Ile de Sal.

On recommence l'expérience sur d'autres Squales.

Résultat. — Sur trois tubes ensemencés, aucun n'a donné de culture.

3°. Station 1218. 23 août 1901. Parages des îles du Cap Vert.

Carcharias obtusirostris.

Ce gros requin a été pris à la ligne à l'arrière du bateau.

Aussitôt que ce squale a été maîtrisé, et avant qu'il ne soit mort, on ouvre son abdomen au thermocautère et on puise une certaine quantité de liquide péritonéal au moyen d'une pipette stérile.

Résultat. — Sur trois tubes ensemencés deux donnent des cultures abondantes qui sont ensuite repiquées sur gélose.

Cette expérience a été réalisée dans les meilleures conditions.

Conclusions. — On voit donc que le liquide péritonéal des Squales recueilli dans les meilleures conditions d'asepsie donne fréquemment des cultures positives.

Les résultats annoncés autrefois par Charles Richet et Louis Olivier se trouvent donc confirmés.

Il faut se rappeler qu'ils avaient été accueillis avec scepticisme au moment de leur publication.

3°. — *RECHERCHES SUR LES MICROORGANISMES DU TUBE DIGESTIF DES ÉCHINODERMES.*

Comme nous le verrons dans la suite de ce mémoire, nous ne possédons pas actuellement de méthode à l'abri de tout reproche pour étudier les bactéries de la couche superficielle des fonds sous-marins.

Les Échinodermes, et en particulier les holothuries, ingèrent la vase de la surface ; j'avais donc pensé que c'était en quelque sorte un moyen indirect de faire cette étude.

Mais, d'après les résultats obtenus, il semble bien que, à l'intérieur du tube digestif de ces Échinodermes, il se fasse une multiplication très intense des microorganismes.

La solution du problème cherché n'est donc pas atteinte, mais les résultats obtenus, en dehors de toute interprétation, sont importants à enregistrer.

1°. *Holothurie* (*Mesothuria rugosa* Hérouard).

Station 1150. 25 juillet 1901. Profondeur 3890 mètres. Température 3°0.

Cette grosse holothurie de couleur gris sale qui est ramenée de près de 4000 mètres de profondeur est en bon état. Elle n'a pas expulsé ses organes de Cuvier ; elle se présente donc dans des conditions très favorables pour l'étude bactériologique de la vase qui remplit son tube digestif.

On ouvre ses téguments au thermocautère ; on laisse s'écouler le liquide cavitaire ; on ponctionne le tube digestif au thermocautère et, au moyen de pipettes stériles on recueille une certaine quantité du contenu intestinal.

Celui-ci est utilisé de deux manières.

a. On fait de nombreuses préparations qui sont fixées à l'alcool-éther et colorées à la thionine.

Toutes ces préparations contiennent de nombreux microbes :

α). Des *Coccus* très nombreux.

β). Des bacilles courts, trapus, arrondis aux extrémités, sensiblement moins nombreux que les *Coccus*.

γ). Des cristaux en oursin qui sont surtout nombreux dans les préparations qui ont séché lentement. Ces cristaux se colorent par la thionine phéniquée ; ils sont insolubles dans l'eau et l'alcool.

b. On ensemence *largement* sept tubes de bouillon de trois formules différentes au moyen du contenu intestinal.

Les tubes sont conservés à la température du laboratoire (environ 25°).

Résultats. — Pendant les premières vingt-quatre heures aucun des tubes ensemencés ne présente de trouble appréciable.

Mais à partir du 27 tous les tubes donnent des cultures abondantes qu'on peut repiquer avec succès sur gélose.

Les bouillons ensemencés présentent une forte odeur de putréfaction.

L'examen microscopique montre de nombreuses bactéries en chaînes.

2°. *Holothurie* (*Mesothuria lactea* Theel).

Station 1209. 20 août 1901. Parages des îles du Cap Vert. Profondeur 1477 mètres. (La température du fond n'a pas été recueillie).

Le contenu du tube digestif est prélevé avec les précautions d'asepsie indiquées précédemment.

On ensemence quatre tubes de bouillon qui tous donnent des cultures abondantes les jours suivants.

Ces cultures sont repiquées avec succès sur gélose et sur noix de coco.

Injection d'une culture au Cobaye.

On injecte un centimètre cube d'une abondante culture sur bouillon dans le péritoine d'un Cobaye.

Le lendemain la température de l'animal a monté de 0°3 ; mais les jours suivants, elle redescend au niveau normal et l'animal est en parfaite santé.

Résultats. — Le tube digestif de cette holothurie contenait de nombreux microorganismes ; leur culture ne semble pas pathogène pour le Cobaye.

3°. *Holothurie* (*Mesothuria lactea* Theel).

Station 1248. 13 septembre 1901. Profondeur 1500 mètres. Au sud-est du Portugal.

Prise aseptique du contenu intestinal.

Ensemencement de deux tubes de bouillon Radais.

Résultats. — Les deux tubes ont donné des cultures au bout de deux jours. Il y a un voile blanc à la surface du liquide.

Une autre holothurie de la même espèce et prise à la même Station donne des résultats semblables.

Mais pour cette seconde holothurie, on fait un ensemencement avec le *liquide cavitaire seul*.

Cette fois, on n'obtient aucune culture.

4°. Oursin (*Dorocidaris papillata*).

Station 1402. 29 août 1902. Profondeur 992 mètres.

Une portion du test est aseptisée au thermocautère. On ponctionne alors avec une pipette stérile. On obtient un liquide citrin clair avec lequel on ensemence largement cinq tubes.

Résultats. — Le 15 septembre aucun des tubes ensemencés n'a donné de culture.

Conclusions générales. — De ces recherches faites sur les échinodermes vivant à des profondeurs plus ou moins considérables, il semble que nous puissions tirer les conclusions suivantes :

1°. La vase qui remplit le tube digestif de ces animaux renferme de nombreux microbes visibles au microscope soit à l'état frais, soit après coloration.

Ces microbes donnent des cultures abondantes sur les milieux usuels de bactériologie.

2°. Le liquide cavitaire de ces échinodermes semble au contraire parfaitement stérile.

C'est là un fait remarquable si l'on songe que ce liquide n'est séparé du contenu intestinal que par une membrane très mince et qu'il est en communication avec le milieu extérieur par la plaque madréporique.

RECHERCHES SUR LES MICROORGANISMES DE LA VASE DES GRANDES PROFONDEURS DE L'ATLANTIQUE.

La vase récoltée directement dans les petites profondeurs de la mer se montre très riche en microorganismes.

On ne comprendrait pas d'ailleurs qu'il puisse en être autrement puisqu'une pluie de cadavres d'animaux petits et grands tombe constamment sur ces fonds et que, comme nous l'avons vu, ces cadavres et les déchets nutritifs des animaux disparaissent sous l'influence des microorganismes, sont décomposés en éléments qui rentrent dans le circulus vital.

On ne voit pas pour quelle raison le même raisonnement ne vaudrait pas pour des profondeurs de plus en plus considérables. Et, de fait, les recherches qui ont été exécutées sur la vase des grandes profondeurs ont toujours montré l'existence de nombreux microbes dans les couches superficielles. Il faut cependant bien remarquer que nous ne possédons actuellement aucune méthode nous permettant de ramener des grandes profondeurs des échantillons de vase en les soustrayant à toute contamination du milieu ambiant.

Le sondeur ordinairement utilisé par les océanographes[1] porte à sa partie inférieure un tube de laiton de 25 millimètres de diamètre, et de longueur variant de 30 à 50 centimètres. Ce tube en arrivant sur le fond s'enfonce dans la vase, et, fonctionnant à la manière d'un emporte-pièce, découpe un boudin qui, à l'arrivée, est chassé au moyen d'un mandrin.

Mais, pendant le retour, les fermetures du tube ne pouvant être complètement étanches, les surface supérieure et surtout inférieure du cylindre de vase se trouvent en contact avec l'eau environnante et, par conséquent, exposées à des contaminations.

J'ai donc utilisé pour les recherches bactériologiques dont je vais donner les résultats, des particules de vase provenant du centre du cylindre et situées à quelques centimètres au-dessous de la surface supérieure[2].

Vase de fond N° 1.

Station 1124. 16 juillet 1901. Profondeur 4020 mètres. Temp. du fond 3°8.
Boudin de vase rapporté par le tube sondeur.

On le sectionne au thermocautère, et, au moyen d'un fil de platine stérile, on prélève au centre des fragments qu'on laisse tomber dans des tubes de bouillon Radais glycériné.

On prépare aussi quatre tubes qui sont largement ensemencés.

Deux de ces tubes sont placés à 37° ; les deux autres sont laissés à la température du laboratoire (environ 20°).

Résultats. — Le bouillon trouble au début en raison des particules en suspension s'éclaircit peu à peu et ne se trouble pas de nouveau.

L'examen microscopique et le repiquage sur gélose sont négatifs.

Il semble donc que cette vase à quelques centimètres au-dessous de la surface, ne renfermait aucun microorganisme.

Vase de fond N° 2.

Station 1160. 31 juillet 1901. Profondeur 5443 mètres.
Même technique que précédemment.

[1] Il s'agit surtout ici du sondeur de Buchanan, l'éminent physicien du *CHALLENGER*.
[2] Il s'agit de la face supérieure du boudin de vase considéré *in situ*, au fond de la mer.

On ensemence largement 5 tubes de bouillon Radais.

Résultats. — Le 13 septembre un seul tube a donné une culture qu'on repique sur gélose.

Vase de fond N° 3.

Station 1211. 21 août 1901. Profondeur 3970 mètres.

Même technique que précédemment.

On ensemence trois tubes de bouillon Radais avec la zone supérieure (mais non superficielle) du boudin de vase.

Résultats. — Aucun des tubes n'a donné de culture.

Vase de fond N° 4.

Station 1169. 4 août 1901. Profondeur 6035 mètres. Température 2°9.

Même technique que précédemment.

On ensemence sept tubes de bouillon de formules diverses.

Résultats. — Un seul tube sur les sept donne une culture.

En résumé. — Sur quatre recherches faites avec la vase recueillie aux grandes profondeurs, on voit que deux recherches ont été entièrement négatives, la vase prélevée à quelques centimètres au-dessous de la surface ne contenait aucune bactérie.

En ce qui concerne les deux autres recherches, la proportion des tubes qui ont donné des cultures est relativement faible. Sur douze tubes ensemencés, deux seulement ont donné des cultures, soit 17 %.

Je dois cependant faire remarquer que toutes mes cultures ont été faites en présence d'oxygène.

Il eût été très intéressant de rechercher les microbes anaérobies dans cette vase située un peu au-dessous de la surface, c'est-à-dire ayant perdu le contact avec l'eau de mer.

RECHERCHES SUR LES BACTÉRIES EN SUSPENSION DANS L'EAU DE MER, DEPUIS LA SURFACE JUSQU'AUX PLUS GRANDES PROFONDEURS.

L'étude bactériologique de l'eau douce aussi bien que de l'eau de mer a depuis longtemps préoccupé les hygiénistes et la première question qui s'est posée est de posséder une méthode permettant de recueillir à une profondeur donnée l'eau qu'on veut examiner et de la ramener à la surface sans qu'elle puisse être souillée pendant le retour par les couches qu'elle doit traverser.

Ce problème fondamental a reçu de nombreuses solutions. Nous allons examiner quelques-unes d'entre elles, choisies parmi les meilleures, afin de voir s'il y en aurait d'utilisables pour nous [1].

[1] Nous utilisons ici surtout le travail de Guillemin J. H., Essais sur la bactériologie de l'eau de mer.

Examen de quelques appareils pour le prélèvement de l'eau destinée aux études bactériologiques.

1°. *Appareil de Guillemin à leviers.* (Fig. 1).

Il est formé de deux parties symétriques. Décrivons l'une de ces parties.

Un flacon *F* fermé d'une manière étanche par un bouchon conique est stérilisé à l'autoclave. Il est alors disposé sur une planchette *B* et fixé au moyen de coliers *c*, *c* sur une planche épaisse qui sert de support à tout l'appareil.

Un levier *L L* qui peut tourner autour du point fixe *A* porte une vis *v* qui s'enfonce à volonté dans un logement préparé dans le bouchon.

Une pièce coudée *D* fixée à demeure sur la planche porte un ressort à boudin qui vient d'autre part se fixer sur le levier mobile *A*.

On coule l'appareil à la profondeur à laquelle on désire récolter l'eau destinée à l'examen bactériologiques ; il est maintenu en place par le poids *R*.

On fait alors glisser le messager *O* le long de la corde de soutien. Ce messager rencontre le levier *L* qui, basculant autour de *A* prend la situation figurée en pointillé. Dans ce mouvement, le bouchon est sorti du goulot de la bouteille et celle-ci s'emplit d'eau.

Mais, le messager continuant sa course vers le bas, dépasse le levier qui se trouve ramené dans sa position primitive par le jeu du ressort à boudin.

En somme, l'appareil, par la descente du messager, est successivement ouvert, empli d'eau et refermé.

Il n'y a plus qu'à la remonter et à procéder à l'analyse bactériologique de l'eau recueillie.

Cet appareil fonctionne sans doute assez correctement aux petites profondeurs.

Mais, au delà de 100 mètres (et peut-être même avant), la pression de l'eau environnante augmentant de plus en plus, elle s'infiltrerait entre le bouchon et le goulot de la bouteille et la bouteille se trouverait contaminée avant d'être parvenue à destination.

Si le bouchon conique était capable de résister à cette infiltration, il pénétrerait dans la bouteille en entraînant le levier *L* qui serait faussé [1].

Cet appareil et beaucoup d'autres construits sur un principe analogue, sont donc tout à fait inutilisables pour les recherches de bactériologie marine.

[1] Une bouteille de champagne descendue dans les grandes profondeurs « pour la rafraîchir » revient intacte en apparence, mais remplie d'eau de mer. Quand la pression est suffisante, le bouchon pénètre dans le goulot, le vin plus léger sort en grande partie et est remplacé par de l'eau de mer. A la remontée, le bouchon reprend sa place primitive.

2°. *Appareil de Miquel.*

Une ampoule de verre prolongée à sa partie supérieure par un col terminé par un tube étroit est chauffée dans une flamme qui détruit les germes contenus à son intérieur et chasse en même temps, une partie de l'air qu'elle contient.

A ce moment, on étire et on ferme à la soufflerie le tube mince supérieur en même temps qu'on le recourbe en anse. (Fig. 2).

L'ampoule est alors placée dans une armature métallique lestée à sa partie inférieure par un contrepoids.

Une première corde *de suspension* est reliée à l'armature métallique ; elle sert à descendre l'appareil à la profondeur choisie.

Une seconde corde plus mince, dite *de rupture*, accompagne la première au moyen d'anneaux, mais elle va s'attacher à l'anse courbe et mince qui a été fermée au chalumeau.

Deux opérateurs sont nécessaires pour manœuvrer correctement cet appareil. Le premier file la corde de soutien jusqu'à ce que l'appareil soit descendu à la profondeur voulue.

Le second laisse se dérouler le cordeau de rupture à volonté en le maintenant légèrement tendu.

Quant la descente de l'appareil est terminée, une traction brusque sur le cordeau de rupture provoque le bris de l'anse recourbée et l'eau se précipite dans l'ampoule où un vide partiel existe, comme nous l'avons vu.

Comme l'appareil de Guillemin, l'appareil de Miquel fonctionne convenablement aux petites profondeurs ; mais dès que celles-ci augmentent, les cordes de suspension et de rupture s'alourdissent en fonction de leur longueur et de l'eau qui les imprègne ; leur manœuvre devient de moins en moins précise ; l'opérateur qui tient la corde de rupture ne «sent plus ce qu'il fait» et il est exposé à provoquer l'ouverture de l'appareil avant que la descente ne soit terminée.

De plus, pendant le retour, des contaminations peuvent se faire par la pointe effilée qui reste ouverte, et qui, étant de faible longueur, permet une communication facile entre le liquide destiné à l'analyse et l'eau ambiante.

L'appareil de Miquel est donc à rejeter pour les recherches à grande profondeur.

Et il en est de même pour toute une série d'appareils construits sur le même principe. (Appareils de Coreil, de G. Roux, etc.).

3°. *Appareil de Russel.* (Fig. 3).

Comme celui de Miquel, il se compose d'un vase, ici de forme cylindrique qu'on chauffe pour le stériliser et en chasser l'air partiellement et d'un col qui se termine par une partie effilée et fermée à la lampe.

Mais cette pointe effilée vient ici reposer sur la tranche d'une planchette qui supporte l'appareil.

Lorsque celui-ci a été descendu à la profondeur choisie, on envoie un poids percé d'un canal (messager) qui glisse le long de la corde de soutien et qui, en arrivant sur l'appareil, vient frapper sur la pointe. Il la brise, permettant ainsi à l'eau de pénétrer dans l'appareil ; celui-ci est alors retiré et on procède aussitôt à l'analyse.

Cet appareil présente sur celui de Miquel l'avantage de supprimer la corde de rupture et d'offrir beaucoup plus de sécurité dans le mode d'ouverture de la pointe.

Mais ici encore, la faible longueur de la partie capillaire ne met nullement à l'abri d'une contamination pendant le retour ; et, pour des raisons que nous développerons plus loin, cette contamination devient presque fatale lorsque l'appareil est obligé de parcourir une grande distance verticale pendant le retour.

* * *

Nous pouvons donc dire qu'à l'époque où nous avons entrepris nos recherches expérimentales sur la bactériologie marine, malgré tous les efforts qui avaient été faits, il n'existait aucune méthode permettant de puiser l'eau aux grandes profondeurs et de la ramener à la surface en éliminant toute contamination pendant le retour.

Nous allons maintenant décrire les efforts successifs que nous avons tentés pour résoudre le difficile problème posé.

On verra qu'il nous a fallu parcourir une série d'étapes avant d'atteindre la solution définitive.

M. le Dr Richard, qui a joué un rôle si important dans l'œuvre accomplie sous la direction du Prince Albert de Monaco, a bien voulu nous faire profiter de la grande expérience qu'il a acquise des recherches à la mer.

La collaboration de cet excellent ami nous a été très précieuse, (nous tenons à le dire ici), pour la solution du difficile problème que nous cherchions à résoudre.

Trois campagnes, celles de 1902, 1903 et 1904 ont été en partie consacrées à des recherches sur la bactériologie de l'eau de mer. La technique était modifiée en fonction des résultats obtenus et de l'expérience acquise.

Nous allons donc exposer ces recherches dans l'ordre chronologique où elles ont été faites.

I. *Campagne de 1902.*

Appareil N° 1. — Le premier appareil utilisé est une simple pipette *A*. (Pl. 1, fig. 5).

Elle est composée d'un tube cylindrique en verre assez épais pour résister aux plus fortes pressions des zones abyssales ; ce tube est étiré à ses deux extrémités de manière à former des prolongements de faible diamètre *ab* et *cd*.

L'appareil est vidé à la trompe, fermé et stérilisé.

Après l'avoir enfermé et fixé dans une armature métallique qui sera décrite, on l'envoie à la profondeur choisie.

A ce moment, on fait basculer l'armature, la pointe *a b* se brise au point *g* qui présente un rétrécissement et un amincissement. L'eau se précipite dans la pipette vide d'air.

Au retour, la pointe *d* est brisée et le contenu est transvasé aseptiquement dans un vase stérile.

On peut alors répartir cette eau de mer dans des milieux de culture.

Des expériences de contrôle[1] ont montré que le liquide de l'ampoule pouvait être facilement contaminé pendant le retour.

En effet, pendant la remontée, l'appareil traverse des couches d'eau de température variable ; l'ampoule *A* fonctionne comme un réservoir de thermomètre et, par suite des dilatations et contractions successives, avec l'augmentation de volume due à la décompression, des échanges avec l'eau ambiante se produisent fatalement par le tube *b g* qui est capillaire et *de longueur insuffisante* pour protéger efficacement le liquide de l'ampoule.

Appareil N° 2. — C'est une simple modification de l'appareil N° 1.

Le prolongement, qu'on ouvre en brisant la pointe à la profondeur choisie, a subi un allongement accompagné d'une courbure de telle sorte que ce long tube *c d h* devient parallèle à l'ampoule. (Pl. 1, fig. 6).

C'est au rétrécissement *g* que s'ouvre cette longue branche au moment où l'appareil bascule quand on a atteint la profondeur à laquelle on veut puiser l'eau de mer.

C'est ce modèle de tube qui a été utilisé durant la campagne de 1902.

Voici le résultat des recherches effectuées par ce moyen.

1°. Station 1324. 7 août 1902. Profondeur 3020 mètres.

La boîte métallique renferme quatre tubes semblables à celui qui a été décrit.

Tube a. — La pointe brisée est recouverte de paraffine et l'eau de mer rapportée et conservée jusqu'au 3 septembre 1902, donc 27 jours.

A ce moment, on procède à l'ensemencement de trois tubes de bouillon (un de bouillon ordinaire, un de bouillon de poisson, un de bouillon de poisson glucosé).

Deux tubes sur trois (les deux derniers) donnent des cultures.

Tube b. — Ce tube est traité de la même manière que le tube *a*. Mais ici on ensemence un seul tube et on ne peut mettre en évidence aucun microorganisme.

Tube c. — Ce tube contenait de la gélose nutritive qu'on avait introduite avant la stérilisation afin de tenter une culture sans transvasement.

Au retour de la profondeur, cette gélose s'est fragmentée et en partie dissoute dans l'eau de mer.

[1] Ces expériences seront décrites à l'occasion de l'examen d'épreuve de l'appareil définitif.

On tente cependant la culture, mais elle reste négative.

Tube d. — Identique au tube *c*.

Il a donné une culture, mais en l'examinant avec soin, on constate qu'il a été mal refermé à la paraffine après son retour de la profondeur.

Ce résultat positif ne semble donc pas probant.

En somme, sur cinq tubes ensemencés deux donnent des cultures.

2°. Station 1424. 6 septembre 1902. Profondeur 2180 mètres.

Tube a. — Au retour, la partie capillaire est chauffée et recouverte d'un caoutchouc.

Le lendemain 7, on ensemence largement :

1°. Deux tubes de bouillon de poisson glucosé. 9 septembre. Les 2 tubes ont donné des cultures qu'on repique sur gélose.

2°. Deux tubes de bouillon de poisson non glucosé. 9 septembre. Les 2 tubes ont donné une culture abondante avec voile à la surface.

3°. Deux tubes de bouillon ordinaire. Le 15 septembre ces tubes n'ont donné aucune culture.

Conclusion. — Sur 6 tubes ensemencés, 4 donnent des cultures.

Il faut remarquer que ce sont les tubes de bouillon de poisson qui se sont montrés les plus favorables au développement des microorganismes.

3°. Station 1430. 9 septembre 1902. Profondeur 5943 mètres.

Deux opérations distinctes sont faites à cette station.

1re Opération.

On recueille de l'eau à 100 mètres du fond.

On ensemence :

1°. Un tube de bouillon de poisson ordinaire. Le 11 septembre il a donné une culture abondante.

2°. Un tube de bouillon de poisson glucosé. Le 11 septembre il a donné une culture abondante.

3°. Un tube de bouillon ordinaire. Ce tube ne donne pas de culture.

Résultats. — Ici encore le bouillon de poisson semble avoir nettement favorisé le développement des microorganismes marins.

2me Opération.

On recueille de l'eau à 3000 mètres de la surface donc à 2943 mètres du fond.

Un thermomètre qui accompagne la boîte à microbes donne une température de + 3°0 à cette profondeur.

Au moyen de l'eau prélevée à cette profondeur, on ensemence :

1°. Deux tubes de bouillon de poisson.

2°. Un tube de bouillon de poisson glucosé.

3°. Deux tubes de bouillon ordinaire.

Les sept tubes donnent des cultures.

Station 1432. 10 septembre 1902. Profondeur 5830 mètres.

On recueille de l'eau à environ 150 mètres du fond, donc à 5680 mètres.

Tube a. — Il est conservé jusqu'au lendemain. Ce jour 11 septembre on ensemence :

1°. Deux tubes de bouillon de poisson ordinaire.

2°. Deux tubes de bouillon de poisson glucosé.

3°. Trois tubes de bouillon ordinaire de bactériologie.

Résultat. — Les sept tubes ensemencés ont donné des cultures.

Mais il faut remarquer que l'eau de mer avait été conservée près de 20 heures dans le tube de récolte et ceci enlève beaucoup de certitude au résultat.

Tube b. — Le 11 septembre au soir, avec le contenu de ce tube, on ensemence :

1°. Trois tubes de bouillon ordinaire.

2°. Trois tubes de bouillon de crustacé (*Lepas*).

Résultat. — Les six tubes ont donné des cultures. Mais il faut faire la même remarque que précédemment sur la sécurité du résultat.

Ainsi sur treize tubes ensemencés avec cette eau de 5680 mètres les treize ont donné des cultures.

Résumé des recherches bactériologiques de la campagne de 1902.

STATIONS	PROFONDEUR	NOMBRE DE TUBES ENSEMENCÉS	NOMBRE DE TUBES AYANT DONNÉ DES CULTURES
1324	3020 mètres	5	2
1424	2180 mètres	6	4
1430	100 mètres sur fond de 5943 mètres	3	2
1430	2943 mètres sur fond de 5943 mètres	7	7
1432	5680 mètres sur fond de 5830 mètres	7	7
	Total.....	28	22

Ainsi, sur un total de 28 tubes ensemencés, 22 ont donné des cultures, soit près de 80 %.

C'est une proportion extrêmement élevée pour de l'eau de mer recueillie loin des côtes et souvent à très grande profondeur.

On a l'impression qu'une faute de technique vient fausser tous les résultats.

De toute nécessité nous devons améliorer notre mode de récolte aux grandes profondeurs.

II. *Campagne de 1903.*

Comme nous venons de le voir, les résultats obtenus au cours de la campagne de 1902 ne donnaient pas l'impression de sécurité indispensable dans les recherches bactériologiques.

La méthode employée n'était pas au point. Le tube capillaire prolongeant l'ampoule avait sans doute une longueur encore trop faible et une contamination pouvait avoir lieu pendant le retour lorsque l'appareil traversait des couches d'eau de température variable.

D'autre part, nous avions des craintes qu'en prolongeant davantage le tube capillaire, l'appareil ne devint trop fragile et par conséquent à peu près inutilisable.

C'est alors que M. Gabriel Bertrand qui avait fait partie du personnel scientifique de la campagne de 1902, nous suggéra une idée très originale.

Le tube à ampoule prolongée de la partie capillaire que nous avons décrit est soigneusement desséché.

On chauffe l'ampoule, puis on plonge l'extrémité ouverte du tube capillaire dans de l'huile de vaseline. Par le refroidissement, l'huile monte par le tube capillaire et une certaine quantité parvient dans l'ampoule où elle s'accumule à la partie inférieure. (Fig. 6, *a*, à gauche).

On fait alors le vide avec une trompe à mercure et on ferme le tube à la lampe ; on stérilise enfin le tube. Il est alors prêt pour l'emploi.

Le tube ayant été enfermé dans l'armature métallique déjà décrite, on le descend à la profondeur choisie ; on provoque alors son retournement.

A ce moment, la partie *g* rétrécie vient frapper sur un couteau ; le tube se brise et l'eau de mer environnante se précipite dans l'appareil en raison du vide qui a été fait. Mais en vertu de sa faible densité, l'huile de vaseline surnage et vient occuper la partie *cd* constituant une séparation étanche entre l'ampoule et le tube capillaire qu'elle occupe en partie. (Fig. 6, à droite).

En somme, en faisant basculer la boîte métallique, le tube de récolte est ouvert, s'emplit d'eau et se referme automatiquement ; il peut alors traverser sans crainte de contamination toutes les couches d'eau depuis les plus grands fonds jusqu'à la surface ; au cours de la remontée, l'huile de vaseline pénètre de plus en plus dans le tube capillaire en se rapprochant de l'extrémité libre, mais, à aucun moment, la séparation étanche entre l'eau de l'ampoule et celle de la mer environnante n'est compromise.

Cet appareil, mis à l'épreuve dans les caisses à eau du laboratoire a parfaitement fonctionné.

Voici une recherche dans le milieu marin faite à très petite profondeur.

Station 1785. 22 août 1904[1]. (Sur la fosse de Monaco).

Pendant qu'on chalute à une profondeur de 5413 mètres, je me rends sur une petite plate-forme attachée à l'avant du bateau sous le beaupré.

Je descends une boîte métallique contenant un tube à vaseline à 4 mètres de profondeur et j'en opère le retournement au moyen d'un messager.

[1] Nous sommes obligés de donner ici le résultat de deux recherches faites durant la campagne de 1904.

L'appareil fonctionne à souhait ; la vaseline s'est bien rendue à la partie supérieure de l'eau de mer. (Pl. 1, fig. 6).

On procède alors à l'ensemencement de quatre tubes de bouillon de crevette, au moyen de l'eau contenue dans la partie cylindrique du tube.

Les tubes sont ensemencés respectivement avec une goutte, deux gouttes, deux gouttes, quatre gouttes et dix gouttes.

Soit en tout dix-neuf gouttes.

Aucun de ces tubes n'a donné de culture.

Cette eau de mer ne contenait donc aucun microorganisme dans un volume d'environ un centimètre cube [1].

Station 1811. 29 août 1904. Profondeur 1400 mètres.

On dispose sur le fil de sonde une boîte contenant un tube à vaseline à 1000 mètres du fond, donc à 400 mètres de la surface.

On opère le retournement par l'envoi d'un messager.

Au retour, on constate que l'huile de vaseline a presque complètement disparu ; une petite partie fragmentée en gouttelettes s'est rassemblée à la partie supérieure du tube.

Le liquide de l'ampoule est laiteux ; au microscope, on constate qu'il est formé d'une fine émulsion ; celle-ci est persistante ; si on abandonne le tube à lui-même, ce n'est qu'après plus de douze heures que l'huile de vaseline vient surnager et que le liquide de l'ampoule s'éclaircit.

Il est facile de comprendre ce qui s'est produit.

Au moment de l'ouverture du tube capillaire, l'eau poussée par une pression de 40 atmosphères se précipite avec violence à l'intérieur du tube vide ; elle rencontre l'huile de vaseline et la fragmente en gouttelettes d'autant plus fines que la pression extérieure est plus forte, d'où la formation d'une émulsion persistante.

Dans ces conditions, la fermeture automatique qui devait être réalisée par le bouchon d'huile de vaseline n'existe plus. La présence de l'hydrocarbure est inutile. Elle peut même devenir nuisible.

Si, en effet, on utilise immédiatement l'eau de mer récoltée, c'est l'émulsion qu'on répartit dans les tubes de culture et on ignore quelle va être l'influence de l'huile de vaseline sur le développement des bactéries.

Si on laisse reposer pendant vingt-quatre heures l'eau de mer récoltée afin d'obtenir la séparation de l'émulsion, les bactéries pourront pendant ce temps se multiplier, et leur nombre, déterminé par la culture apparaîtra comme bien supérieur à ce qu'il est en réalité dans le milieu marin.

Ce mode opératoire, si séduisant, si élégant même, en apparence, ne reste donc applicable que dans les petites profondeurs, *inférieures à cent mètres* par exemple.

[1] Nous n'avons pas fait d'ensemencements plus abondants car nous étions persuadés qu'à cette faible profondeur, la mer était riche en microorganismes.

Mais ici, la présence d'un bouchon isolant devient à peu près inutile en raison de la rapidité avec laquelle l'eau récoltée peut être ramenée à bord.

L'incident que nous venons de relater montre à quelles difficultés imprévisibles on se heurte lorsqu'on veut faire des recherches aux grandes profondeurs.

Les expériences bactériologiques de la campagne de 1903 avaient été préparées avec beaucoup de soin. Des essais réalisés à petite profondeur avaient montré le fonctionnement parfait des tubes à vaseline. Tout ce travail préliminaire fût démontré inutile dès la première récolte d'eau qui eût lieu le 7 septembre.

Nous allons cependant donner la relation abrégée des quatre expériences qui ont été réalisées au cours de cette campagne.

Recherche N° 1.

Station 1556. 7 septembre 1903. Profondeur 4780 mètres.

On recueille de l'eau au moyen de trois tubes.

Tube a. — Il rapporte de l'eau de 2780 mètres au-dessous de la surface, donc à 2000 mètres du fond.

Cette eau est laiteuse par suite de l'émulsion qui s'est produite avec l'huile de vaseline. On la transvase dans un ballon répartiteur. (Pl. 1, fig. 4).

On ensemence immédiatement une première série de tubes de bouillon sans attendre la séparation de l'huile de vaseline.

Soit :

2	tubes	reçoivent chacun	2 gouttes.
1	»		4 »
2	»		10 »
3	»		20 »
2	»		40 »

Résultat. — Les tubes ensemencés avec 2 et 4 gouttes restent stériles.

Tous les tubes suivants donnent des cultures.

Nous pouvons en conclure que cette eau de mer renfermait environ 2 micro-organismes par centimètre cube.

Une deuxième série de tubes est ensemencée avec le liquide qui a séjourné pendant une douzaine d'heures dans le ballon répartiteur et qui s'est à peu près éclairci.

On ensemence :

2	tubes	avec	20 gouttes.
1	»		25 »
1	»		40 »

Résultat. — Tous ces tubes donnent des cultures.

Cette eau contenait donc au moins une bactérie par centimètre cube.

Tube b. — Il rapporte de l'eau de 4720 mètres de la surface, donc à 60 mètres du fond.

On laisse reposer l'eau laiteuse de 19 heures à 9 heures le lendemain ; on transvase alors dans un ballon répartiteur et on ensemence les tubes de bouillon suivants :

2	tubes avec	2	gouttes.
2	»	4	»
2	»	10	»
2	»	20	»
2	»	40	»
1	»	60	» (environ).
4	»	de gélose.	

Résultats. — Seuls un tube de bouillon à 2 gouttes et un tube de gélose ont donné des cultures. Donc environ 1 bactérie pour 8 centimètres cubes.

Tube c. — Il rapporte de l'eau de 4725 mètres de la surface, donc à 55 mètres du fond.

On laisse reposer le même temps que *B*, on transvase aseptiquement dans un ballon répartiteur.

On ensemence les tubes de bouillon suivants :

2	tubes avec	2	gouttes.
2	»	4	»
2	»	10	»
2	»	20	»
2	»	40	»

On ensemence un ballon de bouillon de crevettes avec 250 gouttes, soit environ 10 centimètres cubes[1].

Résultats. — Seul le bouillon de crevette donne une culture.

Cette eau renfermait donc environ un microbe par 10 centimètres cubes.

Recherche N° 2.

Station 1562. 10 septembre 1903. Profondeur 4830 mètres.

Le tube rapporte de l'eau voisine du fond.

Afin de détruire l'émulsion, on laisse reposer jusqu'au 12 à 10 heures du matin.

On transvase alors le liquide clair dans un ballon répartiteur, et on procède à l'ensemencement suivant des tubes de bouillon :

2	tubes avec	2	gouttes.
2	»	4	»
2	»	10	»
4	»	20	»
4	»	40	»

Résultat. — Aucun de ces tubes ne donne de culture.

[1] Le tube répartiteur employé donnait environ 25 gouttes d'eau de mer au centimètre cube.

On peut donc en conclure que les 272 gouttes employées, soit environ 11 centimètres cubes d'eau de mer ne contenaient aucun microorganisme.

Recherche N° 3.

Station 1579. 15 septembre 1903. Profondeur 540 mètres.

On récolte de l'eau près du fond, mais les deux tubes sont séparés par une hauteur d'un mètre.

Tube a. — Il revient à bord vers 9 heures du matin. Afin de détruire l'émulsion, on laisse reposer jusqu'au lendemain, soit donc environ 24 heures.

On transvase alors aseptiquement dans un ballon répartiteur, et on ensemence les tubes de bouillon suivants :

1	tube	avec	2 gouttes.
1	»		4 »
2	»		10 »
2	»		20 »
2	»		40 »

Résultat. — Tous les tubes, sauf le premier, donnent des cultures.

Cette eau de mer renfermait donc environ 5 microorganismes dans 1 centimètre cube.

Tube b. — Il rapporte de l'eau d'une couche située à un mètre *au-dessus* de la première.

On le laisse reposer environ 24 heures, puis on ensemence les tubes de bouillon suivants :

1	tube	avec	2 gouttes.
1	»		4 »
2	»		10 »
2	»		40 »

Résultat. — Seuls les deux tubes ayant reçu 40 gouttes donnent des cultures.

Donc cette eau contenait environ un microorganisme par 2 centimètres cubes.

On voit donc qu'il y a un désaccord manifeste entre les deux tubes qui ne sont séparés que par une distance verticale d'un mètre.

Recherche N° 4.

Station 1591. 16 septembre 1903. Profondeur 150 mètres.

En dehors de son but ordinaire : reconnaître l'abondance plus ou moins grande des bactéries sur un fond de 150 mètres, cette recherche a un autre objectif, celui de voir si les objets envoyés à une faible profondeur peuvent entraîner avec eux des microorganismes qui seraient alors révélés par l'analyse du tube de récolte.

On arrose donc copieusement les masses de fonte de la sonde, le filin et la boîte à microbes avec une culture de bacille de Kiel [1].

On envoie alors le tout sur le fond de 150 mètres, on relève l'appareil, on laisse reposer le tube jusqu'au lendemain pour permettre à l'émulsion d'huile de vaseline de se détruire et on ensemence les tubes de bouillon de la manière suivante :

2	tubes avec	2	gouttes.
2	»	10	»
2	»	20	»
2	»	40	»

Tous ces tubes donnent des cultures qui, repiquées sur gélose, ne présentent pas de coloration rouge.

On ensemence alors l'eau de mer qui reste de la prise à 150 mètres avec du bacille de Kiel, et on retrouve ce bacille qui donne une coloration rouge lorsqu'il est repiqué sur gélose.

Conclusions. — 1°. L'eau recueillie sur ce petit fond de 150 mètres était riche en microbes.

2°. Les appareils lavés lors de leur descente dans la mer semblent ne guère entraîner de bactéries de la surface ou des zones superficielles de la mer ; il a été impossible d'en retrouver aucune trace.

Résumé des Recherches bactériologiques de la campagne de 1903.

Au point de vue de la répartition des bactéries les quatre recherches effectuées peuvent se répartir de la manière suivante.

1°. *Recherches à faible profondeur.*

La recherche N° 4 a été faite à 150 mètres et nous constatons que, déjà à cette faible profondeur, l'huile de vaseline a été émulsionnée et n'a pu remplir le rôle qui lui était destiné.

Cette eau est riche en bactéries. De nombreux cadavres et déchets sont en remaniement sur ces petits fonds.

La recherche N° 3 est faite à 540 mètres.

L'eau est encore riche en bactéries, mais moins que la précédente.

Mais, ce qui est digne d'attention, c'est que deux prélèvements faits à un mètre de distance verticale, donnent des résultats différents.

Le prélèvement supérieur, celui qui est le plus éloigné du fond est moins riche en bactéries.

[1] On sait que sur bouillon et surtout sur milieu solide les cultures de ce microorganisme sont d'un beau rouge carmin.

Cela concorde avec ce que l'on sait du rôle de décomposition des bactéries.

Cependant la conclusion précédente ne peut être tirée avec une entière certitude, l'eau ayant du être abandonnée à elle-même pendant 24 heures et une trace de matière organique ayant pu favoriser la multiplication des bactéries dans le tube inférieur.

2°. *Recherche effectuée dans la zone intermédiaire entre la surface et les grandes profondeurs.*

Le tube *a* de la Station 1556 rapporte de l'eau de 2780 mètres au-dessous de la surface et à 2000 mètres au-dessus du fond.

Cette eau renferme environ 2 bactéries par centimètre cube. C'est beaucoup pour une eau recueillie dans ces conditions et on peut se demander s'il n'y a pas eu multiplication des bactéries pendant le repos.

3°. *Recherches effectuées dans les grandes profondeurs et non loin du fond.*

Les tubes *b* et *c* de la Station 1556 rapportent de l'eau de 4720 et 4725 mètres de la surface et de 60 et 55 mètres du fond.

Cette eau est pauvre en bactéries (une bactérie pour 8 et pour 10 centimètres cubes).

Enfin l'eau de la Station 1562 est récoltée au voisinage d'un fond de 4830 mètres ; elle ne contenait aucune bactérie dans 11 centimètres cubes. C'est donc une eau très pure, bactériologiquement parlant.

En somme, la conclusion générale à tirer de la campagne de 1903 est que la méthode employée (tubes à huile de vaseline) est absolument à rejeter.

L'huile de vaseline à partir d'une centaine de mètres ne remplit nullement l'office auquel elle était destinée et présente d'autre part les grands inconvénients qui ont été signalés.

III. *Campagne de 1904.*

Les recherches effectuées au cours de la campagne de 1902 nous avaient montré que la partie capillaire prolongeant l'ampoule du tube à récolte n'avait pas une longueur suffisante pour assurer dans tous les cas une protection efficace du liquide de l'ampoule pendant le retour.

Les recherches de la campagne de 1903 nous prouvaient que l'huile de vaseline utilisée pour réaliser une fermeture étanche ne remplissait plus son office dès qu'on atteignait une centaine de mètres.

Dans ces conditions, une solution paraissait s'imposer : prolonger la partie capillaire du tube de récolte *d'une longueur suffisante* pour que toute contamination possible soit localisée dans ce tube capillaire, et n'atteignît jamais l'ampoule.

Mais le tube devenait alors si fragile qu'il était presque inutilisable.

Nous résolumes donc de replier ce tube capillaire sur lui-même ; il prit alors la forme *cdfgh*. (Fig. 7).

La partie *ad* a une longueur d'environ 32 centimètres et le tube capillaire présente maintenant une longueur totale d'environ 82 centimètres.

I. *Mise à l'épreuve du tube nouveau modèle.*

Il fallait avant tout s'assurer que ce nouveau tube allait nous donner toute garantie pour la récolte de l'eau de mer, même aux plus grandes profondeurs et dans les conditions de contamination les plus dangereuses.

Nous relaterons d'abord les vérifications auxquelles nous avons procédé soit sur la *Princesse Alice*, soit au laboratoire de la Sorbonne.

1°. *Étude des déplacements de la colonne dans le tube capillaire sous l'influence des variations de température.*

Nous avons déjà fait remarquer que, sous l'influence des variations de température, l'ampoule *A* prolongée par un tube capillaire, fonctionnait comme un thermomètre.

Il fallait donc se faire une idée de l'amplitude des déplacements de l'eau dans le tube capillaire en fonction des variations de température [1].

L'expérience démontra que, dans le tube capillaire, la colonne d'eau se déplaçait d'une longueur de 17 millimètres, 2 pour une variation de température de 4°8.

Un degré est donc représenté par une longueur de $\frac{17,2}{4,8} = 3$ millimètres 583.

Étant donné que le tube *cdefg* possède une longueur de 82 centimètres environ, une différence de température de 20 degrés amène un déplacement de la colonne d'eau d'environ 7 centimètres, qui est inférieure au dixième de la longueur du tube capillaire.

Nous pouvons donc en conclure que, sous le rapport des variations de température, le liquide de l'ampoule est parfaitement protégé par le tube capillaire interposé entre lui et l'eau ambiante.

Mais nous sommes obligés de considérer un autre facteur, celui de la mobilité et de la vitesse de déplacement de certaines bactéries.

2°. *Épreuves de la protection du liquide de l'ampoule contre l'envahissement des microorganismes de l'eau environnante.*

Expérience 1. — Cette expérience est réalisée sur la *Princesse Alice*.

On prend de l'eau de mer de la surface. On la stérilise par filtration sur bougie Chamberland.

[1] Cette étude a été faite avec une précision bien supérieure à celle qui était nécessaire par M. Hémot, constructeur réputé de thermomètres.

On flambe l'extrémité du tube capillaire d'un tube nouveau modèle stérile et on le brise au rétrécissement *g* avec une pince flambée après l'avoir plongé dans l'eau de mer stérile [1].

En raison du vide qui existait dans ce tube, l'eau de mer stérile pénètre par le tube capillaire et remplit l'ampoule.

On plonge alors ce tube dans une grande éprouvette contenant de l'eau de mer puisée sans aucune précaution à la surface.

On laisse au contact pendant deux heures ; ceci fait, on coupe le tube capillaire au point *d*, on adapte un tube filtrant stérile. On coupe la pointe *ab*, on y adapte un tube stérile muni d'une cloche et on répartit le liquide de l'ampoule dans des milieux de culture.

On constate qu'aucun des tubes employés ne donne de culture ; donc le liquide de l'ampoule n'a pas été contaminé.

Expérience 2. — On recommence l'expérience précédente, mais on laisse séjourner le tube de récolte complet pendant vingt-trois heures dans l'eau de mer.

On constate encore que le liquide de l'ampoule réparti dans des milieux de culture ne donne aucun développement microbien. Dans ce cas encore, il n'y a pas eu contamination.

Il va sans dire que l'eau de mer de la surface donne lieu à un abondant développement de bactéries dès qu'elle est ajoutée à un milieu de culture. On l'a vérifié à chaque expérience.

Expérience 3. — Elle est réalisée au laboratoire de physiologie de la Sorbonne.

On prend de l'eau de la canalisation et on la stérilise à l'autoclave à 120 degrés dans de petits matras. Ceux-ci passent ensuite la nuit dehors où la température est inférieure à 0°.

Le lendemain, on brise à l'intérieur de cette eau l'extrémité flambée d'un tube à récolte nouveau modèle, préalablement stérilisé.

Ce tube ainsi rempli d'eau stérile est placé dans une éprouvette remplie d'eau de la canalisation. On le laisse vingt-six heures dans cette situation à la température du laboratoire.

Au bout de ce temps, par la manœuvre habituelle, on répartit le liquide de l'ampoule dans des tubes de bouillon. Tous restent stériles.

Par contre, les tubes ensemencés avec l'eau de la canalisation donnent tous une culture abondante.

Ainsi, au bout de vingt-six heures, le tube nouveau modèle plongé dans de l'eau riche en bactéries, ne présente aucune contamination.

Expérience 4. — (Sorbonne).

Un tube nouveau modèle, non stérile, est remplie avec l'eau de la canalisation.

[1] Cette eau avait été refroidie en plongeant le vase qui la contenait dans de la glace en fragments. On a vérifié qu'elle était bien stérile par des essais de culture qui sont tous restés négatifs.

Son extrémité ouverte est plongée dans un flacon contenant de l'eau. On porte le tout à l'autoclave et on stérilise à 120°.

Après refroidissement, on plonge le tube contenant maintenant de l'eau stérile dans une éprouvette remplie d'eau de la canalisation.

Cette éprouvette est placée dans une étuve à température constante et réglée à 31°.

On laisse en contact quarante-huit heures.

On procède alors à la répartition du liquide de l'ampoule dans des tubes de bouillon.

On constate que ce liquide est resté stérile.

Expérience 5. — (Sorbonne).

Un tube nouveau modèle est rempli d'eau du robinet puis stérilisé à 120° comme dans l'expérience 4.

On plonge alors ce tube dans une éprouvette contenant une culture de *Bacterium coli*. On sait que ce bacille est très mobile. On vérifie d'ailleurs cette mobilité au microscope.

On laisse le tube exposé à la contamination pendant 75 heures à 31 degrés dans une étuve.

On retire alors ce tube, et on le laisse refroidir à 19 degrés[1].

On procède ensuite à l'ensemencement de l'eau de l'ampoule dans des tubes de bouillon.

Toutes ces cultures restent stériles.

Ainsi, après un séjour de 75 heures dans une culture de *B. coli* très mobile, et une baisse de température de 12 degrés, il ne s'est produit aucune contamination du liquide de l'ampoule.

Expérience 6. — (Sorbonne).

Nous avons enfin soumis notre nouveau tube a une épreuve particulièrement sévère.

Nous remplissons un de ces tubes de bouillon de culture. Nous le plongeons ensuite dans une éprouvette qui contient de l'eau dans laquelle on a versé une culture de *B. coli* très mobile.

Le tout est placé dans une étuve réglée à 31 degrés.

On laisse en contact 26 heures.

On sort alors l'éprouvette de l'étuve et on la laisse refroidir jusqu'à 17 degrés.

Il y a donc une chute de 13 degrés qui tend à attirer dans l'ampoule le liquide contenu dans le tube capillaire, donc à contaminer le liquide de l'ampoule.

Ceci fait, on répartit le bouillon contenu dans l'ampoule[2] dans une série de tubes et ballons contenant du bouillon.

[1] Température du laboratoire.

[2] Soit environ 27 centimètres cubes.

Nous n'obtenons aucun développement de microorganismes.

Malgré les conditions très défavorables auxquelles il a été soumis, le bouillon contenu dans l'ampoule n'a donc subi aucune contamination.

A la suite de toutes ces épreuves subies avec succès par notre tube nouveau modèle, il semble bien que nous puissions conclure avec une entière certitude que nous sommes en possession d'une méthode nous donnant toute garantie bactériologique pour la récolte de l'eau même aux plus grandes profondeurs.

Nous verrons cependant, d'après ce qui suit, que certaines difficultés imprévues nous ont obligé à préciser des détails de technique auxquels nous n'avions pas pensé *à priori*.

Nous allons maintenant exposer nos recherches faites au cours de la campagne de 1904.

Nous les diviserons en deux parties suivant la fixation adoptée pour le tube de récolte dans la boîte métallique.

Nous verrons, en effet, qu'il y a là une question de très grande importance pour le problème qui nous occupe.

Première série de recherches.

Immobilisation du tube de récolte par enrobement dans la paraffine.

Le très long tube capillaire qui prolonge l'ampoule du tube de récolte donne à l'appareil utilisé une grande fragilité.

Cette fragilité est évidemment diminuée du fait que le tube capillaire est trois fois replié sur lui-même ; mais lors des manipulations le bris de l'appareil est encore fréquent.

Ce n'est donc pas sans inquiétude que nous nous demandions comment il allait se comporter lorsque la « boîte métallique à microbes » contenant le tube de récolte serait fixée sur le fil de sonde et descendue avec la masse du plomb de sonde et plusieurs autres appareils, aux plus grandes profondeurs.

Afin d'amortir l'effet des chocs inévitables, nous eûmes l'idée de couler de la paraffine dans l'espace vide existant entre le tube de récolte et la boîte métallique qui le contient. Le tube ainsi enrobé faisait corps avec la boîte métallique.

C'est avec ce dispositif qu'ont été réalisées toutes les recherches de la première série que nous allons exposer.

Recherche 1.

Station 1732. A l'abri de l'île de Palma (Canaries). Profondeur 730 mètres. Température du fond 9°8.

La boîte à microbes est fixée sur le fil de sonde à environ 5 mètres du plomb de sonde ; mais il est possible qu'elle ait basculé plus près du fond car on a filé un peu trop après la rencontre du fond.

Sitôt la boîte de retour à bord, on procède aux manipulations ordinaires, et on ensemence les tubes suivants :

2	tubes ensemencés avec	2 gouttes.
1	»	4 »
1	»	6 »
1	»	8 »
1	»	10 »
2	»	20 »
1	»	40 »
1	»	60 »

Résultats. — Seul le tube ensemencé avec 60 gouttes a donné une culture.

En totalisant le nombre des gouttes employées, on en trouve 172. Ce qui à 20 gouttes par centimètre cube donne $8^{cc3}6$.

Ainsi cette eau renfermait environ une bactérie pour 8^{cc3}.

Recherche 2.

Station 1743, 8 août 1904. Profondeur 3455 mètres. Température de surface 23°4. Température du fond 3°.

On fait la prise d'eau au voisinage du fond.

Dès le retour de la boîte, on procède immédiatement à l'ensemencement des tubes de culture.

1	tube ensemencé avec	2 gouttes.
1	»	6 »
2	»	10 »
1	»	20 »
1	»	40 »
1	»	60 »

Résultats. — Les huit premiers jours, aucun des tubes ensemencés ne donne de culture.

Le 17 août, le tube ensemencé avec 60 gouttes présente un développement microbien.

Cette eau contenait donc au plus un microorganisme dans $7^{cc3}4$. Mais il est possible que le développement tardif du tube à 60 gouttes soit dû à une contamination.

Recherche 3.

Station 1767, 17 août 1904. Profondeur 3817 mètres. Température du fond 2°3.

La boîte à microbes est fixée à 10 mètres au-dessus du plomb de sonde.

Dès le retour de l'appareil, on procède à l'ensemencement des tubes suivants :

1	tube	ensemencé avec	10 gouttes.
1	»	20	»
2	»	40	»
2	»	60	»

Résultats. — Un seul tube donne une culture, c'est un de ceux qui ont été ensemencés avec 20 gouttes.

Cette eau contenait donc environ 1 microorganisme pour 10 centimètres cubes.

Recherche 4.

Station 1779. 19 août 1904. Fosse de Monaco, dans l'ouest de Madère. Profondeur 5413 mètres. Température du fond 2°5.

On dispose une boîte sur le fil de sonde à 2000 mètres du fond, donc à 3413 mètres de la surface.

Dès le retour à bord on procède à l'ensemencement des tubes suivants :

1	tube	ensemencé avec	10 gouttes.
1	»	20	»
2	»	40	»
3	»	60	»
1	»	80	»

Résultats. — Un des tubes ensemencés avec 20 gouttes, un avec 40 gouttes et tous les tubes suivants ensemencés avec 60 ou 80 gouttes ont donné des cultures.

Cette eau était donc relativement riche en microorganismes ; elle contenait environ 1 germe par centimètre cube.

Remarque. — Sur le même fil de sonde on avait attaché une deuxième boîte de bactériologie à environ 10 mètres du fond.

Au retour, on constate qu'il s'est produit un trait de fracture au point de réflexion du tube capillaire et non loin de sa jonction avec l'ampoule (partie *c d* de la Fig. 7).

Il est très possible qu'une contamination ait pu se produire au niveau de cette fissure.

On procède malgré tout à la répartition du liquide de l'ampoule dans des tubes de culture et on constate que tous les tubes ensemencés, sans aucune exception, donnent lieu à un développement de bactéries.

Il semble donc préférable de ne pas tenir compte de cette recherche.

Dans d'autres cas que je n'ai pas relatés, le tube était revenu de la profon-fondeur complètement brisé au niveau de l'anse *c d*. Inutile de dire que l'examen du liquide de l'ampoule n'avait pas été fait et que la recherche en question avait été annulée.

Recherche 5.

Station 1793, 25 août 1904. Profondeur 5425 mètres. Température du fond inconnue ; le thermomètre n'a pas fonctionné.

La boîte à bactériologie est placée à 12 mètres du fond.

Au retour à bord, on remarque que quelques fragments de paraffine ont pénétré dans le tube capillaire et ont même gagné la partie voisine de l'ampoule.

Voici l'explication qu'on peut donner de ce fait.

Au moment où la pointe du tube de verre vide est ouverte, l'eau poussée par une pression de 540 atmosphères se précipite dans ce tube avec une violence extrême ; elle entraîne tout ce qui se trouve sur son passage ; et c'est ainsi que des fragments de paraffine se trouvent détachés de la masse d'enrobage et sont entraînés à une distance plus ou moins considérable à l'intérieur du tube capillaire[1].

Voilà un nouvel incident imprévisible et qui peut présenter les plus sérieux inconvénients pour nos recherches.

Il n'est pas impossible, en effet, que la paraffine entraînée recèle des microorganismes ayant résisté à la température de fusion, d'où une contamination possible de l'eau de mer de l'ampoule.

Nous décidons, malgré tout, de procéder à l'examen bactériologique du liquide de l'ampoule. Nous procédons au transvasement aseptique dans un ballon répartiteur et à l'ensemencement des tubes suivants :

1	tube ensemencé avec	5	gouttes.
1	»	10	»
1	»	20	»
2	»	40	»
2	»	60	»
1	»	80	»

Résultats. — Les premiers jours qui suivent l'ensemencement, aucun des tubes ne donne de culture.

Mais le 7 et le 8 septembre, nous constatons qu'un tube à 5 gouttes, un à 40 gouttes et le tube à 80 gouttes présentent un développement de microorganismes.

On peut donc se demander si ces microorganismes ne se seraient pas libérés peu à peu des fragments de paraffine visibles ou invisibles qui ont été entraînés dans le bouillon avec l'eau.

[1] M. Buchanan, l'éminent physicien de l'expédition du *Challenger*, a fait sur ce phénomène quelques recherches démonstratives, auxquelles nous avons pu assister sur la *Princesse Alice*. Il enferme une sphère de verre dans une autre sphère métallique d'un diamètre un peu plus grand. Cette dernière est percée de trous de petit diamètre. On descend les deux sphères emboîtées l'une dans l'autre dans les grandes profondeurs de la mer. A un moment, la sphère de verre se rompt sous l'influence de la pression et se réduit en une poudre impalpable. La sphère de métal est alors violentée et déformée par le coup de bélier de l'eau se précipitant dans l'espace vide intérieur.

La répartition très inégale des bactéries dans le liquide de l'ampoule vient confirmer cette suspicion et jeter un doute sur les résultats de l'opération en cours, et hélas ! sur les résultats précédemment acquis.

On voit, je demande la permission de le répéter, à quelles difficultés imprévues on se heurte lorsqu'on opère à l'énorme pression qui règne dans les zones abyssales de la mer.

La recherche précédente nous donnerait à peu près une bactérie pour 7 centimètres cubes dans l'eau de mer récoltée ; chiffre anormalement élevé et qui doit être considéré comme très douteux pour les raisons que nous venons d'exposer.

Recherche 6.

Même Station que la recherche 5.

Sur le même fil de sonde, nous attachons une seconde boîte de bactériologie de manière qu'elle rapporte de l'eau de 4425 mètres de profondeur, donc de 1000 mètres au-dessus du fond.

Au retour, nous examinons avec soin le tube capillaire et nous voyons que, lui aussi, renferme à son intérieur de petites particules de paraffine ; certaines se sont introduites jusqu'au voisinage de l'ampoule.

Nous transvasons aseptiquement dans un ballon répartiteur et nous ensemençons les tubes suivants :

2	tubes C 2/3 [1]	ensemencés avec	5 gouttes.
2	»		10 »
1	»		20 »
2	»		40 »
2	»		60 »
1	»		80 »

Résultats. — Comme pour la recherche précédente, les premiers jours qui suivent l'ensemencement, aucune culture ne se développe.

Voici au bout de quelques jours les tubes contenant des microorganismes : 1 tube à 5 gouttes, 1 tube à 60 gouttes et le tube à 80 gouttes.

Ici encore, nous constatons donc une anomalie dans la répartition et il semble qu'il y ait beaucoup de chances pour qu'il y ait eu contamination par le mécanisme indiqué.

Il est difficile d'après les résultats de dire quel nombre de microorganismes existait dans cette eau.

Ce serait quatre bactéries par centimètre cube si on s'en rapporte aux cinq gouttes qui ont donné une culture. C'est un chiffre très élevé pour la zone où l'eau a été recueillie.

[1] Le bouillon C 2/3 est du bouillon de Crevette additionné de 2/3 d'eau de mer.

Deuxième série de recherches.

Immobilisation du tube de récolte par des fils métalliques.

On vient de voir les très graves inconvénients que présentait l'enrobement du tube de récolte nouveau modèle dans la paraffine.

Il était donc indispensable de chercher un autre procédé de fixation de ce tube dans la boîte métallique.

L'idée très simple nous vint d'opérer cette fixation au moyen de fil de laiton.

Celui-ci était enroulé autour de certains points du tube capillaire ou du tube de récolte protégés par un anneau de caoutchouc, et pénétrait d'autre part dans des trous percés dans la boîte métallique où on le fixait par une ligature.

Nous nous demandions dans quel état le tube aussi peu protégé contre les chocs allait revenir des grandes profondeurs. Mais, à notre grand étonnement, cette nouvelle fixation nous évita tout accident et, semble-t-il, toute contamination de la part de l'appareil.

D'ailleurs, avant d'envoyer le tube dans la profondeur, nous flambions la pointe de verre qui devait se briser et nous lavions à l'alcool et au xylène les colliers de caoutchouc et les parties voisines des tubes.

Nous allons maintenant relater les recherches faites avec ce nouveau mode opératoire.

Recherche 1.

Station 1795, 25 août 1904. Profondeur 5425 mètres. Fosse de Monaco, dans l'ouest de Madère. Température 3°1.

On envoie sur le plomb de sonde, une boîte de bactériologie à 10 mètres du fond.

Dès la rentrée à bord, nous procédons au transvasement habituel dans un ballon répartiteur et nous procédons à l'ensemencement des tubes suivants :

1	tube C 2/3 [1]	ensemencé par	2 gouttes.
1	»	5	»
1	»	10	»
1	»	10	»
1	»	20	»
2	»	40	»
2	»	60	»
1	»	80	»

[1] Nous rappelons que le bouillon C 2/3 est du bouillon de Crevette additionné de 2/3 d'eau de mer. Nous avions des raisons de supposer que cette formule de bouillon favorisait la culture des bactéries marines.

Résultats. — Un seul tube donne une culture, celui qui a été ensemencé avec 80 gouttes. Il cultive dès le lendemain de l'ensemencement.

Cette eau renfermait donc environ une bactérie pour 16 centimètres cubes d'eau.

Recherche 2.

Station 1798, 26 août 1904. Profondeur 5422 mètres. Fosse de Monaco. Température 3°.

On recueille de l'eau au voisinage du fond.

Dès que l'appareil est de retour, on procède au transvasement aseptique dans le ballon répartiteur.

On ensemence ensuite les tubes suivants :

1 tube	C 2/3	ensemencé avec	10 gouttes.
1 tube	ordinaire	»	10 »
1	»	»	60 »
2 tubes	C 2/3	»	60 »
3 tubes	ordinaires	»	80 »

Résultats. — Tous les tubes ensemencés restent stériles.

Il n'y a donc pas un seul microorganisme dans un volume de 22 centimètres cubes d'eau de mer de cette prise.

Recherche 3.

Station 1798, 26 août 1904. Profondeur 5422 mètres. Fosse de Monaco. Température 3°.

On fait une prise d'eau à 200 mètres de la surface.

Les tubes suivants sont ensemencés :

1 tube	ordinaire	ensemencé avec	5 gouttes.
1 tube	2/3	»	5 »
1	»	»	10 »
1 tube	ordinaire	»	10 »
1	»	»	20 »
1	»	»	40 »
2	»	»	60 »
1	»	»	80 »

Résultats. — Tous les tubes à partir de 20 gouttes ont donné des cultures.

Cette eau contenait donc environ une bactérie par centimètre cube.

Recherche 4.

Station 1803, 27 août 1904. Profondeur 4904 mètres. Température 3°.

On fait une prise d'eau à faible distance du fond.

On ensemence avec l'eau recueillie les tubes suivants :

1 tube ordinaire	ensemencé	avec	20 gouttes.
1 tube 2/3	»		20 »
1 tube ordinaire	»		40 »
1 tube 2/3	»		40 »
1 tube ordinaire	»		60 »
2 tubes 2/3	»		60 »
1 tube ordinaire	»		80 »
1 tube 2/3	»		80 »

Résultats. — Aucun de ces tubes ne donne de culture.

Cette eau ne renfermait donc aucune bactérie dans 23 centimètres cubes.

Recherche 5.

Même Station que pour la recherche 4.

On fait une prise d'eau à 1200 mètres de la surface, donc à 3704 mètres du fond.

Avec cette eau, on ensemence les tubes suivants :

1 tube ordinaire	ensemencé	avec	10 gouttes.
1 tube 2/3	»		10 »
1 tube ordinaire	»		20 »
1 tube 2/3	»		20 »
1 tube ordinaire	»		40 »
1 tube 2/3	»		40 »

Résultat. — Aucun de ces tubes ne donne de culture.

Donc aucune bactérie dans les 7 centimètres cubes d'eau de mer utilisés pour les ensemencements.

Recherche 6.

Station 1811, 29 août 1904. Profondeur 1400 mètres. Température 6°6.

On fait une prise d'eau près du fond.

Avec cette eau, on procède aux ensemencements suivants :

1 tube ordinaire	ensemencé	avec	5 gouttes.
1 tube 2/3	»		5 »
1 tube ordinaire	»		10 »
1 tube 2/3	»		10 »
1 tube 2/3	»		20 »
1 tube ordinaire	»		40 »
2 tubes 2/3	»		40 »
1 tube ordinaire	»		60 »
2 tubes 2/3	»		60 »
2 tubes ordinaires	»		80 »

Résultats. — Tous les tubes à partir de 10 gouttes ont donné des cultures. Cette eau renfermait donc environ 2 bactéries par centimètre cube.

Recherche 7.

Station 1824, 6 septembre 1904. Profondeur 690 mètres. Température 10°7. On fait une prise d'eau près du fond.

Cette eau est répartie directement de la manière suivante, sans transvasement dans le ballon répartiteur :

1 tube ordinaire	ensemencé avec	2	gouttes.
1 tube 2/3	»	2	»
1 tube ordinaire	»	4	»
1 tube 2/3	»	4	»
1 tube ordinaire	»	6	»
1 tube 2/3	»	6	»
1 tube ordinaire	»	10	»
1 »	»	20	»
1 »	»	40	»
1 »	»	60	»
1 tube pour anaérobie		6	»

Résultats. — A partir de 6 gouttes tous les tubes ont donné des cultures. Le tube pour anaérobie n'en a pas donné.

Cette eau renfermait donc environ 3 à 4 bactéries par centimètre cube.

Recherche 8.

Station 1840, 7 septembre 1904. Profondeur 2366 mètres. Température 4°. On recueille de l'eau au voisinage du fond.

Répartition directe sans transvasement.

On prépare les tubes suivants :

1 tube ordinaire	ensemencé avec	2	gouttes.
1 tube 2/3	»	2	»
1 tube ordinaire	»	4	»
1 tube 2/3	»	4	»
1 tube ordinaire	»	6	»
1 tube 2/3	»	6	»
1 tube ordinaire	»	10	»
1 tube 2/3	»	10	»
1 tube ordinaire	»	20	»
1 tube 2/3	»	20	»
1 tube ordinaire	»	40	»
1 »	»	60	»

Résultats. — Aucun de ces tubes n'a donné de culture.

Cette eau ne renfermait donc aucun microorganisme dans 10 centimètres cubes environ.

Recherche 9.

Station 1843, 7 septembre 1904. Profondeur 2815 mètres. Température du fond 3°5.

On fait une prise d'eau à 2315 mètres, donc à 500 mètres du fond.

Répartition directe sans transvasement dans les tubes suivants :

1 tube ordinaire	ensemencé avec	2	gouttes.
1 tube 2/3	»	2	»
1 tube ordinaire	»	4	»
1 tube 2/3	»	4	»
1 tube ordinaire	»	6	»
1 tube 2/3	»	6	»
1 tube ordinaire	»	10	»
1 tube 2/3	»	10	»
1 tube ordinaire	»	20	»
1 »	»	36	»

Résultats. — Aucun de ces tubes n'a donné de culture.

Cette eau ne contenait donc aucun microorganisme dans les 5 centimètres cubes utilisés.

Recherche 10.

Station 1852, 8 septembre 1904. Profondeur 3076 mètres. Température 3°5.

On fait une prise d'eau à environ 13 mètres du fond.

Répartition directe sans transvasement dans les tubes suivants :

1 tube ordinaire	ensemencé avec	20	gouttes.
1 tube 2/3	»	20	»
1 tube ordinaire	»	40	»
1 tube 2/3	»	40	»
1 tube ordinaire	»	60	»
5 tubes 2/3	»	60	»

Résultats. — Aucun de ces tubes n'a donné de culture. Cette eau ne renfermait donc aucun microorganisme dans les 24 centimètres cubes utilisés.

Recherche 11.

Même Station 1852.

On prélève de l'eau à 1576 mètres de la surface, donc à 1500 mètres du fond.

Répartition directe, sans transvasement dans les tubes suivants :

1 tube ordinaire	ensemencé avec	20	gouttes.
1 tube 2/3	»	20	»
1 tube ordinaire	»	40	»
1 tube 2/3	»	40	»
1 tube ordinaire	»	80	»
4 tubes 2/3	»	80	»

Résultats. — Un seul tube a donné une culture : le tube ordinaire qui a reçu 40 gouttes. Il est difficile de conclure de ce résultat. En somme avec les 19 centimètres cubes employés on a eu un seul développement microbien.

Mais l'absence de culture des tubes ensemencés avec 80 gouttes incite à se demander si la seule culture obtenue n'est pas due à une contamination.

Recherche 12.

Station 1855, 9 septembre 1904. Profondeur 3620 mètres. Température 3°2. On recueille de l'eau à 12 mètres au-dessus du fond.

Répartition directe sans transvasement dans les tubes suivants :

1 tube ordinaire	ensemencé avec	40	gouttes.
3 tubes 2/3	»	40	»
1 tube ordinaire	»	60	»
6 tubes 2/3	»	60	»

Résultats. — Aucun de ces onze tubes ne donne de culture.

Donc aucun microorganisme dans 25 centimètres cubes de cette eau de mer.

Recherche 13.

Même Station 1855.

Prise d'eau à la surface de la mer par une boîte de bactériologie immergée sous le beaupré pendant que le yacht avance lentement debout au vent[1]. La boîte reste immergée ainsi pendant un quart d'heure environ.

A ce moment, on envoie le messager et on fait la prise d'eau.

Il faut noter que le plancton était peu abondant à ce moment à la surface de la mer[2].

Répartition immédiate sans transvasement dans les tubes suivants :

1 tube ordinaire	ensemencé avec	10	gouttes.
1 tube 2/3	»	10	»
1 tube ordinaire	»	20	»
1 tube 2/3	»	20	»

[1] Ces précautions sont prises pour éviter que l'eau récoltée n'ait été contaminée par le yacht.

[2] Renseignement fourni par M. Richard.

1 tube ordinaire ensemencé avec 40 gouttes.
3 tubes 2/3 » 40 »
2 tubes ordinaires » 60 »

Résultats. — Tous les tubes ensemencés restent stériles, sauf un tube ensemencé avec 40 gouttes et un ensemencé avec 60 gouttes.

En somme cette eau renfermait environ un microorganisme dans 8 centimètres cubes.

Recherche 14.

Station 1863, 10 septembre 1904. Profondeur 1628 mètres. Température 5°2.

On fait une prise d'eau sur le fond.

On répartit cette eau immédiatement dans les tubes suivants :

2 tubes ordinaires ensemencés avec 4 gouttes.
2 » 10 »
1 » 20 »
1 » 40 »
1 » 80 »

Résultats. — Aucun des tubes n'a donné de culture.

Les 6 centimètres cubes employés ne contenaient donc aucun microorganisme.

Recherche 15.

Station 1874, 12 septembre 1904. Profondeur 2000 mètres. Température absente.

Prise d'eau près de la surface à l'avant du yacht sous le beaupré pendant qu'il avance lentement.

Le plancton est très peu abondant à la surface de la mer[1].

On répartit immédiatement dans les tubes suivants :

2 tubes ordinaires ensemencés avec 40 gouttes.
5 » 60 »

Résultats. — Sur les 7 tubes ensemencés, 4 ont donné des cultures.

Cette eau de la surface contenait donc environ une bactérie pour 2 centimètres cubes.

Recherche 16.

Station 1878, 13 septembre 1904. Profondeur 4567 mètres. Température 2°9.

La prise d'eau est faite à environ 12 mètres du fond.

On répartit immédiatement cette eau entre les tubes suivants :

5 tubes ordinaires ensemencés chacun avec 60 gouttes.

Résultats. — Aucun des tubes ne donne de culture.

Il n'y avait donc aucun microorganisme dans les 16 centimètres cubes d'eau utilisés.

[1] Renseignement fourni par M. Richard.

Recherche 17.

Station 1901, 15 septembre 1904. Profondeur 78 mètres. Banc Gorringe. Température non déterminée.

Prise d'eau au voisinage du fond avec une boîte à messager descendue à la main.

Nous sommes sur le banc Gorringe sur lequel existent de très nombreux poissons comestibles.

On répartit immédiatement l'eau récoltée entre les tubes suivants :

2	tubes ensemencés avec	2 gouttes.
2	»	4 »
2	»	6 »
2	»	10 »
2	»	20 »
5	»	60 »

Résultats. — Tous ces ensemencements ont donné des cultures. Nous pouvons donc conclure que cette eau contenait plus de 10 bactéries par centimètre cube.

Elle en contenait peut-être beaucoup plus ; mais lorsque ce résultat fut acquis, nous nous étions éloignés du banc Gorringe et il nous fut impossible de procéder à de nouvelles déterminations.

En tous cas, il est bien curieux de constater la richesse en microorganismes de cette eau au milieu de laquelle vivent de très nombreux êtres marins, notamment des poissons.

Dès qu'on s'éloigne du banc en restant à la même profondeur, la mer devient très pauvre en bactéries. C'est un fait qui illustre bien le rôle si important des microorganismes dans le circulus de la matière au niveau de la planète.

Nous avons donné la relation des recherches faites à bord de la *Princesse Alice* en les énumérant dans l'ordre chronologique.

Nous allons maintenant les rassembler en les ordonnant en fonction de la profondeur à laquelle la prise d'eau a été faite.

Nous essayerons ensuite de mettre en évidence les conséquences qui résultent des faits établis.

Le tableau permet d'établir une comparaison entre les deux séries de recherches faites au cours de la campagne de 1904.

Voici les faits principaux qui ressortent de cette comparaison :

1° Dans la série I, nous rencontrons des bactéries même aux plus grandes profondeurs.

2° Dans la série II, par contre, l'eau des zones abyssales est le plus souvent tout à fait pure, bactériologiquement parlant.

Et ceci vérifie notre opinion précédemment exprimée que les prises de la première série étaient entachées d'erreur due à la présence de la paraffine destinée à immobiliser les tubes de récolte dans la boîte métallique.

Campagne de 1904.

Série I. — Enrobement a la paraffine des tubes de récolte.

STATION	PAGE	PROFONDEUR DE LA PRISE D'EAU	PROFONDEUR TOTALE	NOMBRE DE BACTÉRIES	OBSERVATIONS
1732	40	725 mètres	730 mètres	1 pour 8 cc³	
1779	42	3413 —	5413 —	1 — 1 —	
1743	41	3455 —	3455 —	1 — 7 cc³ 4	Contamination possible
1767	41	3807 —	3817 —	1 — 10 cc³	
1793	44	4425 —	5425 —	4 — 1 — ?	Contamination probable par la paraffine
1793	43	5413 —	5425 —	2 — 1 — ?	
Série II. — Fixation des tubes de récolte par fils métalliques.					
1855	50	Surface	3620 mètres	1 pour 8 cc³	
1874	51	Surface	2000 —	1 — 2 —	
1901	52	78 mètres	78 —	plus de 10 pour 1 cc³	Banc Gorringe
1798	46	200 —	5422 —	1 pour 1 cc³	
1824	48	690 —	690 —	3 — 1 —	
1803	46	1200 —	4904 —	0 — 7 —	
1811	47	1400 —	1400 —	2 — 1 —	
1852	49	1576 —	3076 —	1 — 19 —	Et probablement 0
1863	51	1628 —	1628 —	0 — 6 —	
1843	49	2315 —	2815 —	0 — 5 —	
1840	48	2366 —	2366 —	0 — 10 —	
1852	49	3063 —	3076 —	0 — 24 —	
1855	50	3608 —	3620 —	0 — 25 —	
1878	51	4555 —	4567 —	0 — 16 —	
1803	46	4904 —	4904 —	0 — 23 —	
1795	45	5415 —	5425 —	1 — 16 —	
1798	46	5422 —	5422 —	0 — 22 —	

3°). L'eau de la surface ou des faibles profondeurs contient toujours des microorganismes.

L'abondance de ceux-ci est maxima lorsque l'eau est recueillie au voisinage de fonds très riches en animaux (Banc Gorringe, à 78 mètres de fond).

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Des recherches précédentes, il semble que nous puissions tirer les conclusions suivantes.

1° Le tube digestif de tous les poissons examinés renferme des bactéries. Mais celles-ci sont beaucoup plus abondantes chez les poissons de surface ou de faible profondeur.

Les poissons des grands fonds, qui passent leur vie à une température voisine de o degré, semblent ne renfermer que peu de microorganismes dans leur tube digestif.

De nouvelles recherches sur la biologie de ces microorganismes seraient désirables, notamment en ce qui concerne l'optimum de température de leur culture.

Le milieu intérieur et les organes des Téléostéens semblent être aseptiques dans les conditions normales.

Chez les Squales, au contraire, comme l'avaient annoncé autrefois Charles Richet et Louis Olivier, le liquide péritonéal renferme fréquemment des microorganismes.

2° La vase qui remplit le tube digestif des animaux *limivores* (Echinodermes) renferme un très grand nombre de microorganismes décelables directement au microscope ou par culture.

Il est probable que, sous l'influence de conditions favorables réalisées dans la lumière du tube digestif, il se forme une véritable culture *in situ* de microorganismes qui sont utilisés pour la nourriture de l'animal.

Le liquide cavitaire de ces animaux, bien qu'exposé à de nombreuses causes de contamination, paraît stérile.

3° La vase recueillie aux petites profondeurs est riche en microorganismes.

Il est probable qu'il en est de même de la vase qui constitue les couches superficielles des grands fonds ; mais nous n'avons actuellement aucune méthode nous permettant d'en donner la preuve.

Dans les grandes profondeurs, la vase prélevée à quelques centimètres au-dessous de la surface ne renferme que peu de bactéries aérobies.

Il serait désirable de faire des recherches méthodiques sur les anaérobies de cette vase.

4° Le problème de la répartition des bactéries dans la masse de l'eau des océans depuis la surface jusqu'aux plus grandes profondeurs, était resté jusqu'ici sans solution certaine, faute d'une méthode impeccable de récolte de l'eau.

L'appareil Portier-Richard modifié progressivement et élaboré par une série d'essais méthodiques semble apporter une solution précise de ce problème.

Il résulte des nombreuses recherches faites avec cet appareil que la répartition des bactéries de l'eau de mer obéit aux lois suivantes :

L'eau du voisinage de la surface et des petites profondeurs est presque toujours riche en microorganismes. A mesure qu'on s'enfonce vers la profondeur, le nombre des bactéries diminue.

Cependant, jusqu'à quelques centaines de mètres au-dessous de la surface, la répartition des bactéries semble assez irrégulière. On a l'impression qu'il existe des *essaims de microorganismes* comme il existe des *essaims de plancton* ; et, selon toute vraisemblance, il doit y avoir coïncidence, pénétration des deux groupements.

Lorsqu'à une certaine profondeur il existe un *banc*, le nombre des bactéries, à la surface de ce banc, augmente considérablement par rapport à la même zone de profondeur du voisinage.

L'eau des grandes profondeurs, tout au moins à quelque distance du fond, semble extrêmement pauvre en bactéries.

On peut caractériser d'un mot la loi de répartition des bactéries : elles se multiplient, elles sont abondantes là où elles ont un travail à accomplir, c'est-à-dire des déchets à remanier.

BIBLIOGRAPHIE

Bernard (Francis) et Fage (Louis), *Recherches quantitatives sur le plancton méditerranéen*, Bull. Inst. Océanogr., N° 701, 1936.

Bertel (Dr Rodolphe), *Les bactéries marines et leur influence sur la circulation de la matière dans la mer*, Bull. Inst. Océanogr., N° 672.

Bigelow (Henry, B.), *Oceanography. Its scope, problems and economic importance*, London, Chapman and Hall. 1931.

Brandt (K.), *Phosphate und Stikstoffverbindungen als Minimumstoffe für die Produktion im Meere*, Conseil permanent international pour l'exploration de la mer. Kopenhagen 1929.

Certes (A.), *Note relative à l'action des hautes pressions sur la vitalité des microorganismes d'eau douce et d'eau de mer*, Soc. Biol., 1884, *36*, p. 220.

Correns, Defant, Gessner, Stahlberg, Schubert, Wattenberg et Wüst, *Tiefseebuch*, Mittler et Sohn. Berlin 1934.

Le Dantec (A.), *Le microbe du rouge de morue*, Soc. Biol., 1906, *58*, p. 136.

Gran (H.), *Studien über Meeresbakterien*, Bergens Museum. Aarbog 1902.

Gran, *Bacteria of the ocean and their nutrition*, Naturen, *27*. Bergen 1903.

Le Dantec (A.), *Note sur une nouvelle catégorie de microbes : les microbes chlorurophiles*, Soc. Biol., 1906, *58*, p. 139.

Guillemard (Alfred), *Diversité de résistance des bactéries à la pression osmotique*, Soc. Biol., 1909, *67*, p. 538.

Guillemin (J. H.), *Essais sur la bactériologie de l'eau de mer*, Thèse pour le doctorat d'université. Bordeaux. J. Durand, 1901.

Harvey (H. W.), *Biological Chemistry and physics of sea water*, Cambridge. University Press, 1928.

Keutner, *Ueber das Vorkommen und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien im Meere*, Wissensch. Meeresunters. Abt. Kiel, Bd viii.

Legendre (R.), *La corrosion à la mer*, Revue scientifique, 15 avril 1938.

Portier (Paul), *Sur la répartition des bactéries dans la masse des eaux de l'océan*, C. R. Soc. Biol., 1936, 21 mars.

Portier (Paul), *Microorganismes de la vase des océans*, C. R. Soc. Biol., 1936, 21 mars.

Portier (Paul) et Richard (Jules), *Sur une méthode de prélèvement de l'eau de mer destinée aux études bactériologiques*, C. R. Acad. Scienc., 1906, 14 mai, et Bull. Inst. Océanogr., N° 97, février 1907. Résultats des Campagnes scientifiques accomplies sur son yacht par Albert Ier, etc. Fasc. LXXXIX, p. 360 (Pl. ii, fig. 6-9).

Richet (Charles), *Microbes chez les poissons et les animaux marins*, Soc. Biol., 1882, 4 novembre, p. 588-594.

Richet (Charles) et Olivier (Louis), *Microbes de la lymphe des poissons*, C. R. Acad. Scienc., *96*, p. 384 et *97*, p. 119 et 674.

Vallaux (Camille), *Nouvelles recherches américaines sur la circulation de l'Atlantique nord*, Bull. Inst. Océanogr., N° 723. 1937.

Vallaux (Camille), *La circulation de profondeur dans l'océan atlantique*, Revue hydrographique, *13*, 1936, p. 32-45.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Introduction 3

Importance de la biologie marine. — Rôle des bactéries dans le circulus de la matière organique à la surface de la planète 3

Édification de la matière vivante dans la mer. Rôle des sels nutritifs et de l'assimilation chlorophyllienne. 4

Rôles multiples des bactéries marines 9

Bactéries solubilisant la gélose, la chitine, la cellulose, le caoutchouc (latex) etc 9

Exposé des recherches bactériologiques faites à bord de la *Princesse Alice* 13

Conditions de recherche et installations des appareils à bord 13

Milieux de culture. Bouillons de poisson, de crustacé 15

Recherches sur les microorganismes du tube digestif et du milieu intérieur des animaux marins 16

Recherches bactériologiques sur les liquides péricardiques et péritonéaux des squales 18

Recherches sur les microorganismes du tube digestif des échinodermes 19

Recherches sur les microorganismes de la vase des grandes profondeurs de l'Atlantique 21

Recherches sur les bactéries en suspension dans l'eau de mer depuis la surface jusqu'aux plus grandes profondeurs 23

Examen de quelques appareils pour prélèvement de l'eau destinée aux études bactériologiques 24

Appareil de Guillemin à leviers 24

Appareil de Miquel, appareil de Russel 25

Campagne de 1902. Appareil N° 1 26

Appareil N° 2 27

Campagne de 1903 29

Résumé des recherches bactériologiques de la Campagne de 1903 35

Campagne de 1904 36

Mise à l'épreuve du tube nouveau modèle 37

Première série de recherches 40

Deuxième série de recherches 45

Tableau récapitulatif des recherches de la Campagne de 1904 53

Conclusions générales 54

Bibliographie 56

Table des matières 57

LÉGENDE DE LA PLANCHE

Pages

Fig. 1. Appareil de Guillemin 24

Le messager *O*, en glissant le long du câble *CC*, rencontre le talon du levier *AL*, mobile autour de *A*. Il provoque l'ouverture des flacons stérilisés *FF*, les bouchons venant dans la position figurée en pointillé.

Dès que le messager a franchi la zone des leviers, ceux-ci, poussés par les ressorts à boudin, reprennent leurs situations primitives et les bouchons retombent dans les goulots des flacons.

— 2. Appareil de Miquel 25

C'est une ampoule stérilisée et vide prolongée par un col étiré, fermé à la lampe. Elle est renfermée dans une armature métallique lestée par un poids à sa partie inférieure.

Une corde de *suspension*, fixée à l'armature métallique, permet de descendre l'appareil à la profondeur voulue.

Une seconde corde plus mince (*corde de rupture*) accompagne la première au moyen d'anneaux dans lesquels elle peut glisser. En tirant brusquement sur la corde de rupture, l'anse mince est brisée et l'eau de mer pénètre dans l'ampoule.

— 3. Appareil de Russel 25

Un vase de forme cylindrique est vidé d'air et stérilisé. Il est prolongé par un tube capillaire fermé à la lampe et qui repose sur la tranche de la planche de support.

L'appareil ayant été descendu à la profondeur voulue, un messager envoyé sur la corde de suspension brise la pointe et permet à l'ampoule de se remplir d'eau.

— 4. Ballon répartiteur 32

Ballon prolongé à sa partie inférieure par une tubulure reliée par un tube de caoutchouc (muni d'une pince à pression) à un tube de verre effilé. Celui-ci pénètre dans une petite cloche qui le met à l'abri des contaminations.

A sa partie supérieure, le ballon répartiteur est fermé par un bouchon de caoutchouc percé de deux trous. Dans l'une, pénètre un tube de verre coudé, muni d'une ampoule garnie d'ouate pour filtrer l'air ; dans l'autre trou pénètre un tube de verre droit qui sera relié au vase de l'appareil de récolte. On pourra ainsi transvaser aseptiquement et répartir dans des tubes de culture, l'eau recueillie aux différentes profondeurs.

Dans les dernières recherches (Campagne de 1904), ce ballon répartiteur a été supprimé ; l'ensemencement des tubes de culture a été fait au moyen du dispositif de la figure 8.

— 5. Pipette de récolte 26

Ce premier modèle a peu servi en raison des défauts signalés dans le mémoire.

LÉGENDE DE LA PLANCHE (suite)

Pages

Fig. 6. Tube de récolte, second modèle..... 27

La tubulure supérieure *c d* a été allongée et recourbée le long de l'ampoule en *c d g h*.
Le tube est garni d'huile de vaseline (en noir).
Il est figuré au départ (à gauche), puis au retour à droite. (Voyez le texte pour les détails).

— 7. Tube de récolte, modèle définitif..... 36

La tubulure a été de nouveau allongée et forme trois replis. Afin de diminuer la fragilité de l'appareil, le tube capillaire est rapproché de l'ampoule (coupe à la partie supérieure).

— 8. Ampoule, séparée du tube capillaire..... 36

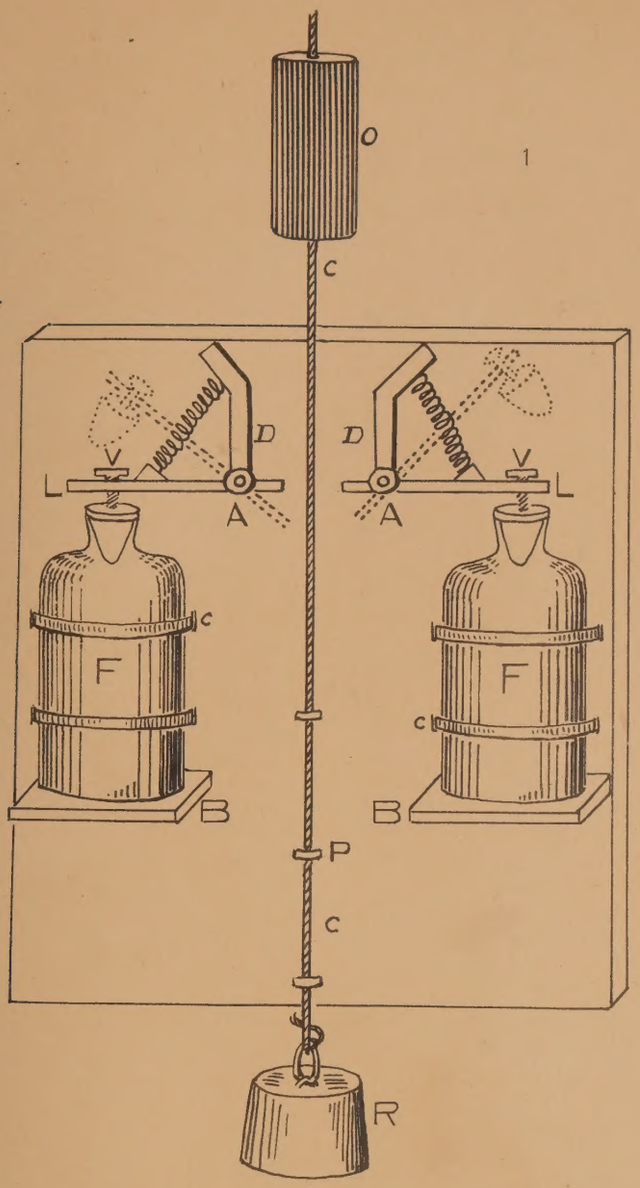
Un tube de verre, muni d'un tube de caoutchouc, le tout stérile, a été fixé à la tubulure inférieure *a b*. Une petite cloche de verre permet d'éviter toute contamination pendant la répartition de l'eau dans les tubes de cultures.

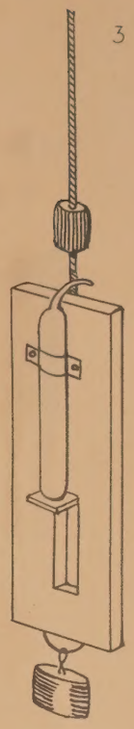
— 9. Dispositif Portier-Richard..... 40

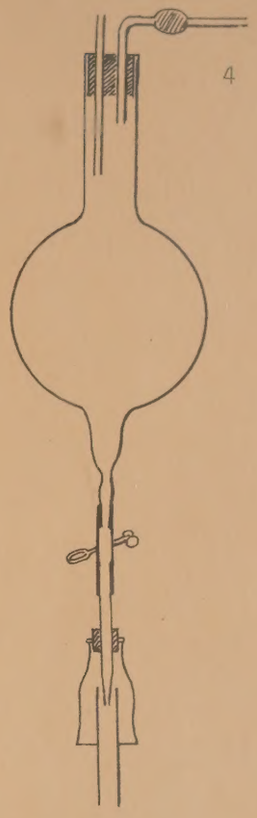
La boîte qui renferme les tubes de récolte est maintenue en équilibre instable par une goupille solidaire d'un levier sur lequel arrivera le messager.

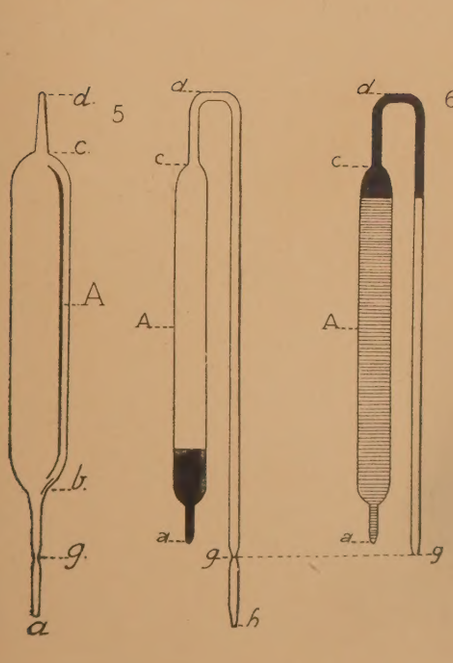
— 10. Dispositif Portier-Richard..... 40

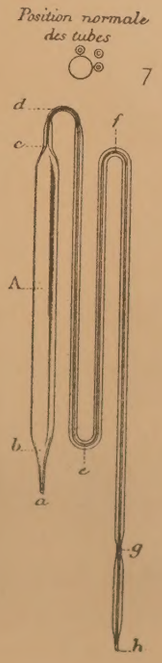
Le messager a libéré la boîte qui, basculant, a brisé l'extrémité du tube capillaire sur le couteau oblique du bas de la monture et permis l'entrée de l'eau dans les tubes de récolte.

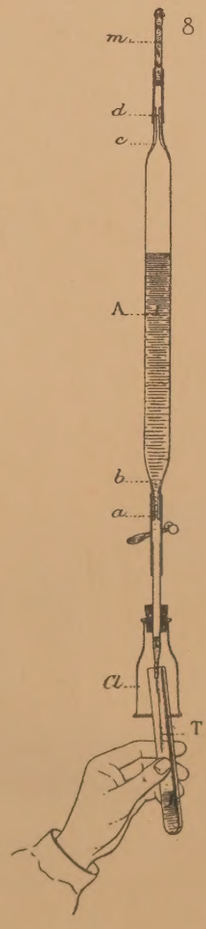


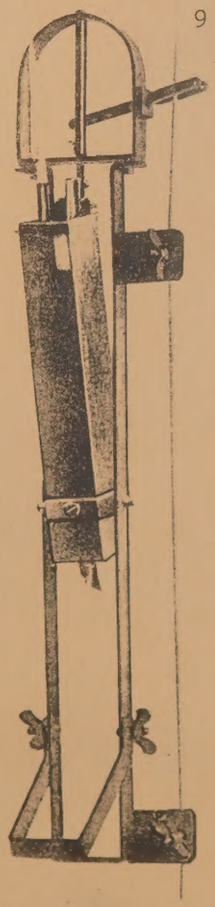


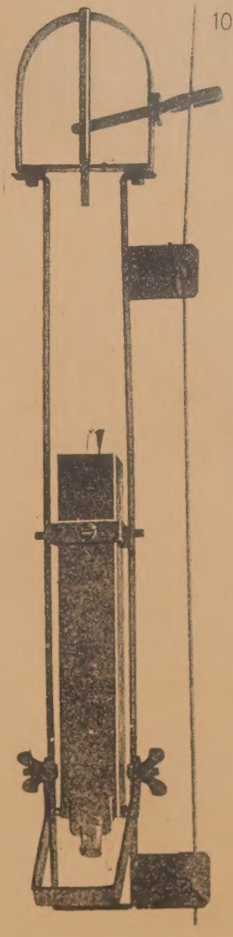












A.D.I.A., IMP., NICE.